الجمـــــهورية العــــربية الســــورية

جامــــــعة البــــــعث

كلية الطـــــب البيطـــــري

قســـــم الأحـــــياء الـــــدقيقة

التقصي عن المسببات الجرثومية للخراجات السطحية عند أغنــام العواس في المنطقة الشرقية من سوريا

رسالة مقدمة من الطبيب البيطري

سليمان الحوالة

دبلوم في التحليل والتشخيص المخبري

لنيل درجــة الماجستير في العلوم الطبية البيطريــة

اختصاص أحياء دقيقة

باشــــراف

أ.م.د. إبراهيم الرفاعي

قســـم الأحـــياء الـــدقيـــقة

المشرف العلمي

1433هـ - 2012 م

قرار لجنة الحكم والمناقشة

استناداً إلى قرار مجلس البحث العلمي والدراسات العليا بجامعة البعث رقم (٢٣١) المتخذ بالجلسة رقم (٦) للعام الدراسي ٢٠١١ – ٢٠١٢ المنعقدة بتاريخ ٢٦ محرم ١٤٣٣ هـ الموافق ٢٠١١/١٢/٢١ م القاضي بتشكيل لجنة الحكم والمناقشة لرسالة الماجستير للطالب سليمان الحواله بعنوان:

" التقصي عن المسببات الجرثومية للخراجات السطحية عند الأغنام العواس في المنطقة الشرقية من سورية "

وبعد عرض الرسالة وسردها ومناقشتها، اجتمعت لجنة الحكم والمناقشة بتاريخ ٢٠ / ٣ / ٢٠١٢ وبعد المداولة قررت اللجنة ترشيح طالب الدراسات العليا سليمان الحواله لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية اختصاص (الأحياء الدقيقة) بتقدير عام (جيد جداً) وبدرجة (٨٠،٦٤).

وتوصي اللجنة بصرف تكاليف طباعة الأطروحة على نفقة الجامعة نظراً للجهد الذي بذله الطالب والتكاليف التي تكبدها إضافة إلى تناوله موضوعاً حساساً من الناحية الاقتصادية في القطر.

أعضاء اللجنة	التوقيع
أ. د. عزام كردي اختصاص الفيروسات كلية الطب البيطري – جامعة البعث	
أ. د. عبد الكريم قلب اللوز اختصاص الأمراض المعدية والوبائيات كلية الطب البيطري – جامعة البعث	
أ. م. د. إبراهيم الرفاعي اختصاص أحياء دقيقة (فطور) كلية الطب البيطري – جامعة البعث	

الأستاذ الدكتور عميد كلية الطب البيطري

بعد الإطلاع على الأطروحة المعدلة من رسالة الماجستير المقدمة من قبل المرشح لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية طالب الدراسات العليا سليمان الحواله في قسم الأحياء الدقيقة – اختصاص (الأحياء الدقيقة) بعنوان :

" التقصي عن المسببات الجرثومية للخراجات السطحية عند الأغنام العواس في المنطقة الشرقية من سورية "

نفيدكم بأن الأطروحة بشكلها الحالي قد استوفت التعديلات التي أشارت لها لجنة الحكم والمناقشة التي عقدت يوم الثلاثاء بتاريخ ٢٠ / ٣ / ٢٠١٢ لمناقشة الرسالة، ونعتبر أن الرسالة بهذه الصورة جاهزة للطباعة بشكلها النهائي.

يرجى التكرم بالإطلاع

١٠ /٥/ ٢٠١٢

عضو	عضو	رئيس اللجنة
أ. م. د. إبراهيم الرفاعي	أ. د. عبد الكريم قلب اللوز	أ.د. عزام كردي

رئيس قسم الأحياء الدقيقة

أ. د. محمد محسن قطرنجي

مصدق

عميد كلية الطب البيطري

أ. د. عزام كردي

❀ شهادة ❀

نشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة، هو نتيجة بحث قام به المرشح الطالب سليمان الحوالة تحت إشراف الدكتور إبراهيم الرفاعي الأستاذ المساعد في قسم الأحياء الدقيقة، في كلية الطب البيطري في جامعة البعث، وأي رجوع إلى بحث آخر في هذا الموضوع موثق في النص.

المشرف العلمي
أ. م .د. إبراهيم الرفاعي

المرشح
سليمان الحوالة

حرر في / /

❀ Certificate ❀

It is hereby certified that the work described in this thesis is the result of the authors own investigation Sulaiman AL- Hawala under the supervision of the Assistant Prof. Dr. Ibrahim Rifai in the department of Microbiology at the faculty of veterinary medicine , Albaath University And any reference to other researcher work has been acknowledged in the paragraphs.

Candidate
Sulaiman AL- Hawala

Assistant Prof. Dr
Ibrahim Rifai

Date / /

❀ تصريح ❀

أصرح بأن هذا البحث الموسوم بعنوان: (**التقصي عن المسببات الجرثومية للخراجات السطحية عند أغنام العواس في المنطقة الشرقية من سوريا**) لم يسبق أن قُبل للحصول على أية شهادة ولا هو مقدم حاليًا للحصول على شهادة أخرى.

المرشـــــــــــــــــح

سليمان الحوالة

التاريخ / /

❀ Declaration ❀

It is hereby declared that this work (**Investigation For Bacterial Causes Of Superficial Abscesses At Awassi Sheep In Eastern Region Of Syria**) has not been accepted already for any degree, nor is being submitted concurrently for any other degree.

Candidate
Sulaiman AL- Hawala

Date / /

الفصل الأول

1. مقدمة

Introduction

تعتبر الثروة الحيوانية من أهم ركائز الدخل القومي في القطر العربي السوري، وتعد الأغنام العواس من المصادر الرئيسية لهذه الثروة، التي تعاني من العديد من المشاكل والمعوقات، وتأتي في مقدمتها الأمراض مسببةً خسائر اقتصادية كبيرة من خلال ارتفاع نسبة النفوق، وانخفاض نسب الإنتاج، وزيادة نسبة استبدال الحيوانات المريضة، كما أن معالجة الأمراض وصعوبة السيطرة على جائحات الأمراض الوبائية تزيد من الخسائر الاقتصادية، والتي تحول بينها وبين تنمية هذا القطاع وتحد من نمو وازدهار الثروة الغنمية، وإن أكثر المناطق التي تعاني وبشدة من هذه المعوقات هي المنطقة الشرقية، ومن ضمنها محافظة دير الزور، فقد بلغ عدد الأغنام فيها 2,147,692 رأس، أما الأبقار فكان عددها 231,210 رأس، وعدد الماعز فكان 164,662 رأس، وعدد الإبل 20,050 رأس حسب نتائج حصر الثروة الحيوانية لعام 2010 م (مديرية الزراعة و الإصلاح الزراعي في دير الزور)، ومن هنا تظهر أهمية الأغنام الاقتصادية على مستوى الثروة الحيوانية، والتي بلغ عدد الأغنام المنتجة فيها 1,396,000 رأس، وقدر إنتاجها من الحليب 83760 طن في الموسم، والصوف 2577.23 طن في الموسم، واللحم 17371.3 طن في السنة، والذي يجعلها تدخل في عدة مجالات صناعية نذكر منها الصناعات الغذائية وصناعة الألبسة، بالإضافة إلى الاستفادة من مخلفاتها كأسمدة عضوية بعد معالجتها.

وقد كانت الخراجات ولا تزال إحدى الإصابات الشائعة التي تسبب مشاكل صحية واقتصادية متنوعة تؤثر في الإنتاجية عند القطعان المصابة، حيث تعتبر الخرّاجات بؤرة تتركز بها المسببات المرضية خاصةً السطحية منها، والتي تعتبر أحدى بوابات دخول هذه المسببات لجسم الحيوان ومصدر تلوث للبيئة المحيطة، وهذه المسببات غالباً ما تكون مشتركة، والتي تتيح إمكانية إصابة الإنسان بها،[50+44+38+33+19+17+15] علماً أن هذا الأمر نادر الحدوث،[50+21+14]

وعلى الرغم من ذلك يجب اتخاذ الإجراءات الصحية عند معالجة أو التعامل مع الحيوان المصاب، من ارتداء قفازات للاستخدام مرة واحدة و غسل اليدين والملابس بعد التماس بالحيوانات المصابة مباشرة. [1]

تسبب الخراجات الناتجة عن الإصابة بالوتدية السلية الكاذبة *Corynebacterium pseudotuberculosis* خسارة لمربي الأغنام الذين يعملون بشكل خاص في صناعة الصوف،[17] حيث تفقد الأغنام وسطيا بين 4 إلى 7% من إنتاج الصوف الصافي النظيف أي بمعدل 0.2 - 0.25 كغ من وزن جزة الصوف، وزيادة كلفة تنظيفه، وبلغ مجموع خسارة الصوف من 15-20 مليون دولار في استراليا، والتي تركزت في أجود أنواع الصوف والأكثر ثمناً. [17+45+46]

كما يسبب وجود الخراجات الداخلية خسارة في نسبة تصافي ذبيحة الأغنام. بحيث تصل هذه الخسارة في المسلخ إلى 1% من ذبائح الأغنام البالغة مكلفةً مليون دولار سنوياً في استراليا، ويتم إزالة الأجزاء المصابة وما حولها من الذبيحة والذي ينتج عنه خسارة من 1 إلى 3 مليون دولار سنوياً، وتكون الكلفة الأكبر على المسلخ هي كلفة التفتيش عن هذه الخراجات حيث يصرف 75% من وقت مفتش اللحوم في فحصها وإزالتها وهذا يزيد بشكل كبير من الكلفة المدمرة والمجهدة، بالإضافة إلى تنسيق الذبائح المصابة بشكل كبير، ففي عام 1990-1991م بلغت الكلفة حوالي 10 مليون في استراليا حيث تعتمد الخسارة على سعر اللحم، وبلغت الخسارة الإجمالية من 30 إلى 35 مليون في جميع أنحاء استراليا في عام 1991 – 1992 م، كما يجب أن نضع في الحسبان كلفة عزل ومعالجة الحيوان المصاب، وتأثيرها على إنتاجية الأغنام من الحليب وكذلك على خصوبتها. [17+45+46]

في بعض المواقع جنوب إيران لوحظ أن نسبة النفوق في قطعان الأغنام بلغت 2-5% والمترافقة بالتطور المتفاقم للخرّاجات المتعددة في الجزء السطحي من الجسم والذي يتبع بتعمق العدوى والنفوق لبعض الحيوانات. [42]

وتكتسب هذه الدراسة أهميتها كونها الأولى من نوعها في سوريا، حيث لا توجد دراسات محلية حقلية أو مخبريه موثقة عن هذا المرض ومسبباته.

أهداف الدراسة:

1) التشخيص الحقلي للخراجات السطحية عند الأغنام العواس في المنطقة الشرقية من سوريا.

2) عزل المسببات الجرثومية لهذا المرض و تصنيفها.

3) إجراء اختبار حساسية العزولات الجرثومية للمضادات الحيوية المستخدمة محليًا.

الفصل الثاني

2. الدراسة المرجعية

Review Of Literature

1.2. التعاريف:

1.1.2. الخراج Abscess:

هو التهاب قيحي بؤري ناتج عن ردة فعل الجسم المناعية على وجود المسببات الجرثومية حيث يحدث انحلال ونخر النسيج الملتهب تحت تأثير الإنظيمات المفرزة من العدلات، ويتشكل تجويف ممتلئ بالقيح محاط بمحفظة تتألف من عدة أغلفة :

- غلاف قيحي داخلي يلامس القيح غني بالخلايا البلعمية.
- غلاف حبيبي يتألف من نسيج حبيبي.
- غلاف ليفي من الخارج يحوي خلايا أرومة الخلايا الليفية Fibroblast وألياف من نسيج ضام.

2.1.2. القيح Pus :

هو نتحة التهابية غنية بالبروتينات تحتوي كريات بيض ممزوجة مع بقايا خلوية (أنسجة منتخرة) ناتجة عن الأنظيمات الحالة للعدلات المنتخرة في منطقة الخراج، بالإضافة إلى المسببات الجرثومية وذيفاناتها.

2.2. أنواع الخراجات:

تصنف الخراجات إما حسب مكان توضعها (حسب العضو) أو نوعها، أما التقسيم الشائع عند الأغنام فهو كالتالي: [28+19+17+12]

1.2.2. خراجات سطحية:

يمكن تمييزها بالفحص السريري للحيوان، حيث تتوضع هذه الخراجات تحت الجلد مثل خراجات (الرأس، والرقبة، والكتف، والقص، والخاصرة، والعقد اللمفية السطحية)، والخراجات المفصلية، وخراج الغدة بين الظلفين، وخراج الخصية، وخراج الضرع، الخ ..

2.2.2. خراجات داخلية:

ويتم تسميتها حسب العضو الذي تتوضع به ونذكر على سبيل المثال خراج (الرئة، والكبد، والكلية، والنخاع الشوكي، والعقد اللمفية الداخلية، وجدار الرحم، الخ ......).

3.2. طرق انتقال العدوى ودخول المسببات الجرثومية إلى جسم الحيوان:

غالباً ما ينتقل المرض إلى القطعان السليمة بإضافة حيوان مصاب، أو تعرض الحيوانات للعدوى في المعارض أو المزادات أو المراعي المشتركة، حيث إن مكان توضع الخراج يحدد خطر انتقال الجراثيم إلى حيوان أخر، وتشكل جميع الخراجات السطحية خطراً عند انفجارها، كما أن أي خراج في الرئتين قد يسبب خراجات في النسج الأخرى، مما قد يؤدي إلى تأذي الحيوان. [19]

إن تلوث البيئة المحيطة بالمسببات الجرثومية، وطرق التربية تؤدي دوراً هاماً في تأمين دخول المسببات الجرثومية لجسم الحيوان، والذي يتم بأحد الطرق التالية:

1.3.2. عن طريق الجلد:

تدخل المسببات الجرثومية عن طريق تلوث الجروح السطحية غالباً، أو حدوث خدش للجلد بأدوات ملوثة كاستخدام إبر غير معقمة قد تسبب عدوى مكان الحقن، [11] أو عن طريق النباتات الشوكية (بذور وسويقات شوكية)، وغالباً ما تتطور هذه الخراجات في نفس مكان الجرح الملوث مسببةً خراجات حول الفم والشفاه والضرع. [43+28]

وبشكل عام لا تلاحظ خراجات القص والكتف في الأغنام إلا عند الجز أو بعد الجز، فعندما يقوم المربي بجز الحيوان قد يصيب جدار الخراج بشكل غير مقصود، وفي هذه الحالة يجب التوقف وتعقيم أدوات الجز بشكل جيد، وعزل الحيوان حتى تمام شفائه. [40+35+21]

وتعد مناطق الجلد غير المحمية مثل الرأس والرقبة هي الأكثر عرضة للجروح والخدوش الناتجة عن المعالف أو المشارب داخل الحظائر، أو الممرات المعدنية ذات الزوايا الحادة أو السياج والأسلاك في المرعى، حيث إن نقطة الدخول غالباً ما تكون التآكلات الموجودة على الرأس أو حول الفم،[12] والناتجة عن العادات السلوكية عند الأغنام مثل حك رؤوسها ورقابها على الأعمدة والأسيجة والدلاء والمعالف بسبب وجود الطفيليات الخارجية أو نتيجة تراكم الأتربة وبقايا النباتات على الصوف سامحةً بنشر القيح بسرعة. [40+12]

إن ربط الأغنام من رؤوسها (بطريقة الرؤوس المتقابلة) أثناء الحلابة تجعلها عرضة للاحتكاك القوي مع بعضها في منطقة الرأس والرقبة، وبالتالي انفجار الخراج وحدوث تلوث مباشر لرأس النعجة المربوطة بجانبها. [12]

كما أن تغطيس الأغنام أو رشها عند مكافحة الطفيليات الخارجية (القمل وهامات الجرب والحلم والقراد) يزيد من قدرة الجراثيم على اختراق الجلد ومن ثم الدم ويزيد من فرصة حدوث الإصابة من 5-8 أضعاف، مع إمكانية حدوث العدوى من دون وجود محاصر للأغنام. [21]

يسبب حصر الأغنام بغية التلقيح أو الجز أو التغطيس أو الحلابة انفجار الخراجات السطحية نتيجة للزحام وبذلك تلوث الأغنام الأخرى أثناء حركتها، أو حتى أثناء تناول العلف أو الشرب حيث يسبب تدافع الأغنام على المعالف والمشارب انفجاراً للخراجات في منطقة الرأس والرقبة ملوثةً العلف في الأوعية، وبالتالي التماس المباشر للأغنام مع الجراثيم وزيادة انتشارها. [43+40+17]

يؤدي الإنسان دوراً في نقل تلك المسببات عند التماس مع المواد الملوثة ثم التماس مع احد الحيوانات أو حلابتها بدون غسل اليدين بشكل جيد. [35+24]

2.3.2. عن طريق مخاطية الجهاز الهضمي:

هناك إمكانية لانتقال العدوى إلى الحيوان عند تناول الأعلاف أو الأعشاب الملوثة إما: عن طريق القيح الناتج عن انفجار الخراجات السطحية، أو البول عند وجود خراج في الكلية، أو عن طريق السعال والإفرازات الأنفية الحاملة للمواد الناتجة من خراجات الرئة. [21+40]

وقد أُثبت وجود تلك المسببات في مخاطية الجهاز الهضمي، لذا يجب إزالة الروث وإبعاده عن المعالف،[14] وتشير عدة تقارير إلى وجود الوتديات في الحليب، عند وجود خراج بالضرع، مما قد يؤدي إلى نقل تلك المسببات إلى مواليدها. [19]

3.3.2. عن طريق مخاطية الجهاز التنفسي:

ينتقل القيح الحاوي على الجراثيم الناتج عن انفجار الخراجات الموجودة في الرئتين عبر المجاري التنفسية، ومن ثم يقذف مع السعال إلى البيئة المحيطة، وعلى مجموعة من الأغنام أو قد تسعل النعجة المصابة في وجه نعجة أخرى والتي تستنشق بدورها الرذاذ الحاوي على المسببات الجرثومية. [15+19]

ويعتقد بأن السعال هو الطريقة الرئيسة لانتقال المسببات عند الأغنام المصابة بالخراجات الرئوية، وذلك عند حصرها مع أغنام جديدة بعد الجز، وقد أظهرت الدراسات أن حصر الأغنام لمدة ساعة واحدة بعد الجز يضاعف من حدوث العدوى بالخراجات، ويساعد الازدحام على الانتشار بهذه الطريقة. [14+17]

4.3.2. عن طريق الدم:

تنتقل معظم المسببات الجرثومية عن طريق الدم، وبشكل خاص الوتدية السلية الكاذبة *Corynebacterium pseudotuberculosis* والشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes*،[12] فعند دخول الجراثيم إلى جسم الحيوان تتكاثر في منطقة الدخول، ثم تنتقل عبر الدورة الدموية إلى العقد اللمفية السطحية والداخلية وكذلك الأعضاء الداخلية بما فيها الرئتين والكلى والكبد

وقد تصل هذه الجراثيم إلى النخاع الشوكي مسببةً تكوين الخراجات، ويمكن اعتبار الحيوان المصاب ناقلاً للعدوى مدى الحياة. [17+15]

تبقى الوتدية السلية الكاذبة متطفلة داخل الخلايا الدفاعية للكائن المضيف(وحيدات النوى البلعمية)، وهذه الخلايا هي المسؤولة عن ابتلاع وهضم الجراثيم و تحطيمها، لذا فإن الوتدية السلية الكاذبة قادرة على البقاء بداخلها والتكاثر، ومن ثم قتل تلك الخلية، وبالتالي انتشار الجراثيم بشكل أكبر، ثم تقوم خلايا بلعمية جديدة بابتلاع جراثيم أخرى وتتكرر نفس العملية. [15]

ويقوم الجسم بترشيح هذه الجراثيم من الدم إلى العقد اللمفية حيث تحتجز تلك الجراثيم في العقد اللمفية، ويقوم الذيفان A الذي تنتجه تلك الجراثيم بتدمير العقدة اللمفية، فيتشكل خراج كبير يجف بشكل تدريجي ويصبح متجبن المظهر، ومن هنا سميت بالعقدة المتجبنة. [17+12]

4.2. أنواع العدوى بالخراجات:

تكون الخراجات الخارجية مسؤولة عن نشر المرض، وتعتبر الأغنام أكثر عرضة للإصابة بالخراجات الداخلية، أما الماعز فهي أكثر عرضة للإصابة بالخراجات الخارجية، وبالتالي فإن الماعز لها دور هام في نقل هذا المرض للأغنام، كما أن الحيوان المصاب يعتبر حاملاً للعدوى مدى الحياة،[2] ويمكن تصنيف العدوى بالخراجات كمايلي: [40+28+26+17]

1.4.2. العدوى الأولية: وتلاحظ في القطيع عند جلب حيوان مصاب بخراجات خارجية، أو داخلية فقط بدون ظهور الخراجات الخارجية عليه، وبالتالي قد تطرح الجراثيم بصورة نشيطة، أو بشكل خامل وتنشط عند تعرض الحيوان لعوامل الإجهاد مثل الحمل و نقص التغذية و أمراض أخرى .

2.4.2. العدوى المزمنة: حيث يلاحظ في القطيع عدة حيوانات مصابة، وبالتالي تصبح البيئة مثل العلف والماء والأدوات (أدوات الحلابة والجز والتغذية والأسيجة) ملوثة.

ومن العوامل المساعدة على حدوث العدوى المزمنة بالخراجات بقاء الجراثيم المسببة للخراجات حية في المواد العضوية، وبشكل خاص عند وجودها في الأماكن الظليلة من

الأسيجة والأعمدة وعلى الأرضيات، وفي حظائر الجز وأحواض العلف وأطراف الدلاء، حيث توفر وسطاً ملائماً لتلك الجراثيم، والتي تؤمن لها الحماية من نور الشمس والريح وتطيل من فترة بقاء هذه الجراثيم، وذلك لمدة تتجاوز الأربعة أشهر، كما توجد هذه الجراثيم في القناة الهضمية وتطرح مع روث الماعز والأغنام، وتبقى حية في القش والتبن والحطب لعدة أسابيع، وتستطيع هذه الجراثيم أيضاً البقاء لمدة 24 ساعة على الأقل في أقفاص الأغنام التجارية. [17+24]

5.2. الأعراض والتغيرات المرضية العيانية:

تختلف الأعراض حسب مكان توضع الخراج، فإذا كان الخراج سطحي أو قريب من الجلد فإننا نلاحظ انتباج واضح تحت الجلد في أماكن توضع العقد اللمفية السطحية، وبشكل خاص عند الإصابة بالوتدية السلية الكاذبة، ويلاحظ ذلك في العقد اللمفية خلف البلعوم والعقد اللمفية خلف الأذن، والعقد اللمفية تحت الفك السفلي، والعقد اللمفية النكفية، والعقد اللمفية أمام الكتف، والعقد اللمفية أمام الفخذين، والعقد اللمفية المأبضية،[1+8] أو على الرقبة أو الكتف أو خاصرة الحيوان، كما يمكن أن يلاحظ هذا الانتباج بين الأرجل الخلفية على كيس الصفن أو الضرع،[15+30] وإذا كان الخراج سطحي مفتوح فيلاحظ خروج القيح من نقطة انفجار الخراج. [19]

أما الخراجات الداخلية فلا يمكن أن تلاحظ إلا بعد ذبح الحيوان أو أثناء التشريح أو عن طريق الأشعة السينية أو إحداث خزعة، كما يمكن استخدام الاختبارات المصلية إلا أنها غير معتمدة ولا يعتد بها، وغالباً ما تكون الخراجات الداخلية قاتلة، في حين أن خسارة الوزن المزمنة عند الحيوان تعطي اشتباهاً بوجود تلك الخراجات، وتسمى هذه الحالة (متلازمة النعجة الهزيلة) وتلاحظ بشكل شائع عند الحيوانات البالغة.[1+17+29+41]

في حال وجود الخراجات الداخلية تعاني الأغنام المصابة من الحمى، والتي غالباً ما تمر دون ملاحظتها، وتبدأ بعد ذلك مشاكل متعددة، مثل فقدان الوزن وانخفاض الأداء الإنتاجي[5] خاصةً إنتاج الصوف في هذه الفترة، مع انخفاض الكفاءة التناسلية (قلة الخصوبة) نتيجة إصابة الرحم، كما تتأثر خصوبة الكبش بتشكل الخراجات في الخصية أو بالقرب منها،[12]

ويلاحظ انخفاض إنتاج الحليب، مع إمكانية الإصابة بالتهاب الضرع، وفي حال وجود الخراجات في الرئة فإننا نلاحظ على الحيوان المصاب ضائقة تنفسية وسعال مزمن، [41+5] كما أن الإصابات الحادة قد تسبب نفوق الأغنام أو رقودها بسبب الوهن، علماً بأن معدل النفوق لدى الماعز والأغنام منخفض جداً. كما تسبب الخراجات الداخلية انخفاض معامل التحويل العلفي لدى أغنام التسمين مما ينعكس سلباً على الوزن، وبالتالي قيمة الذبيحة المصابة وتصافي اللحم. [15]

ليس بالضرورة أن تكون جميع حالات خسارة الوزن المزمنة في الأغنام مترافقة بإصابة بالتهاب العقد اللمفية التجبني، ويستند التشخيص على الأعراض السريرية الملاحظة بصرياً، حيث يتراوح ملمس الخراج من القاسي إلى الطري، وتأخذ بعض الخراجات شكل دائري واضح على سطح جسم الحيوان. [41+21]

تسبب الخراجات في المفصل أو القريبة منه إعاقة في حركة الحيوان، مما يضطره للرقود نتيجة للألم أو وجود أكثر من خراج، كما تتسبب بعجز عصبي أو شلل عندما يتكون الخراج في النخاع الشوكي أو الدماغ. [42+40+1]

في بعض الحيوانات ترتفع درجة الحرارة مع فقدان للشهية و خمول في العدوى الأولية، مع إمكانية انتقال العدوى من الخراجات السطحية إلى أعضاء أخرى مثل الكبد والرئتين والكلى والمنطقة التناسلية والجهاز العصبي، ومن هنا لا يمكننا حصر التأثير الإجمالي للخراجات الداخلية ولا مدى الضرر المتسببة به، وأحيانا يصاب الحيوان بالخراجات الخارجية بدون الداخلية والعكس صحيح، ولا يوجد طريقة للكشف المبكر. [42+40]

1.5.2. التغيرات التشريحية المرضية :

عند إصابة العقدة اللمفية بالخراجات تكون الكتلة المركزية للخراج عبارة عن صفائح دائرية متجبنة منخورة محاطة بسياج من نسيج ضام، [46+17] ويمكن أن ترى مستعمرات الوتدية السلبية الكاذبة في النسيج المنخور و لمعة الأوعية الدموية في جدار الخراج. [46+17]

6.2. المسببات الجرثومية للخراجات:

تختلف أنواع المسببات الجرثومية باختلاف مكان توضع الخراج، وأهم الجراثيم ايجابية الغرام المتهمة بشكل أساسي في إحداث هذا المرض هي :

- الجراثيم الوتدية السلية الكاذبة *Corynebacterium pseudotuberculosis* **[46+42+27+26+19+17+15+8+5+4+3+1]**
- الشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes* **[46+42+22+20+17+11+10+7]**
- العنقوديات *Staphylococcus spp* 11 **[46+42+20+17+9+7+5+3+1]**
- العقديات *Streptococcus spp* **[46+42+20+7]**

بالإضافة إلى جراثيم أخرى سلبية الغرام تم عزلها مع أنواع من الوتديات *Corynebacterium.spp* والشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes*[42+29] مثل: أنواع الباستوريلا *Pasteurella spp* والتي عزلت من خراجات الرئة والكبد،[46+23+7] والاشريكية القولونية *Escherichia coli* التي عزلت من خراجات الكبد والرئة وكذلك الخراجات السطحية،[23+5] وكذلك المغزلية النخرية *Fusobacterium necrophorum* التي عزلت من خراجات الكبد وخراجات الأظلاف،[23+7] بالإضافة إلى أنواع الزوائف *Pseudomonas. spp*،[5] وأنواع الإمعانيات *Enterobacter spp*، [46+5] والعصوانية الهشة *Bacteroides fragilis*، والموركسيلا البقرية *Moraxella bovis*، [46+5] وكذلك *Prevotella melaninogenica* ، [7] وأنواع المكيرات *Micrococcus spp* وأنواع الغازيَّة *Aeromonas .spp* [46]

1.6.2. جنس الوتديات The Genus Corynebacterium

يمتلك جنس الوتديات والشُعّيات actinomycetes قرابة مع جنس المتفطرات Mycobaterium والنوكارديا Nocardia والرودوكوكس Rhodococcus (المكورات القرمزية أو المكورات الحمراء)، ويشمل هذا الجنس على عصيات متعددة الأشكال وأحيانا تكون مكورة أو عصوية (هراوية) المظهر، وهي جراثيم إيجابية الغرام، غير متحركة ماعدا الوتدية المائية

Corynebacterium aquaticum، حيهوائية ولا حيهوائية مخيرة، إيجابية الكاتالاز، غير متبوغة، غير صامدة للحمض، تميل قليلاً للتشعب، ولها جدار خلوي وحيد البنية والتركيب يشكل قسم كبير من الجرثوم، وهو الأساس في قدرتها على البقاء حية تحت الظروف الطبيعية السيئة بما في ذلك الجلد، ويحوي على حمض كورينميكولك Corynemycolic acid والذي يعرف بمكون الورم الحبيبي، وقد يؤدي دوراً في بقائها حية داخل الخلايا. [37+33+17+14]

6.2. 1.1. الوتدية السلية الكاذبة *Corynebacterium pseudotuberculosis*

تسمى أيضا بالوتدية الغنمية *Corynebacterium ovis* [39+14] وهذه الجراثيم تتطفل داخل الخلايا بشكل اختياري، وهي المسبب المعروف لالتهاب العقد اللمفية التجبني Caseous Lymphadenitis CLA (خراج، التهاب العقد اللمفية) في الماعز والأغنام، [26+15+8+4] كما تسبب عندها إجهاضات والتهاب مفصلي، وتسبب عند الماشية الخراجات والتهاب الضرع، وعند الخيل تسبب التهاب الأوعية اللمفية التقرحي وخراجات بطنية. [46+30+14]

إن مرض التهاب العقد اللمفية التجبني CLA يشكل خطورة اقتصادية في جميع أنحاء العالم، ويتميز بخراج مزمن في العقد اللمفية السطحية، ويكون بشكل حلقات حاوية على قيح سميك متجبن القوام بلون مخضر قليلا، وقد يمتد إلى العقد اللمفية الداخلية خصوصاً الموجودة في الرئتين، ورغم النسب المتفاوتة للخراجات في الرئتين إلا أنها متهمة في نشر المرض. [37+28+27+8+4]

6.2. 1. 2. انتشار الإصابة بالوتدية السلية الكاذبة:

تتراوح نسبة الانتشار في مجموعات وقطعان الأغنام بين 30% إلى 50% وهي غير مُستغرَبة، [51+36+32+27+17] وتزيد هذه النسبة مع تقدم العمر بشكل نموذجي، وتكون الإصابة نادرة في الحملان إلا في حال حدوث تماس بشروي شرطي (جز وتغطيس الحملان مع مجموعة من النعاج المصابة). وإن الخسارة الاقتصادية لمرض التهاب العقد اللمفية التجبني CLA ناتجة عن نسبة النفوق المرتفعة وذلك بعد ملاحظة تطور ما يعرف بـ''متلازمة النعجة الهزيلة'' والتأكد من المرض بتشريح الجثة، بالإضافة إلى انخفاض إنتاج

الصوف والحليب على الأقل في السنوات الأولى من المرض، كما تنخفض قيمة القطيع والكفاءة التناسلية أيضاً. [48+36+32+19+14]

6.2. 1. 3. العدوى بالوتدية السلية الكاذبة:

يحدث الانتقال الأولي أو العدوى الأولية أثناء التماس المباشر مع الأدوات الملوثة مثل مقص الجز الملوث أو مغطس الأغنام أو المعالف أو العلف، ومن الملاحظ بأن تجميع الأغنام أثناء الجز والتغطيس يحدث فرصة للانتقال بصورة ضبابية (ع/ط الرذاذ) للوتدية السلية الكاذبة من خراج الرئة إلى الجروح والسحجات الناتجة عن الجز، حيث تدخل هذه الجراثيم النسيج السطحي للجلد ومن ثم تنتقل عبر الخلايا البلعمية إلى العقد اللمفية في المنطقة، حيث تتكاثر داخل تلك العقد مؤدية لتشكيل الخراج فيها، ويساعد الفوسفوليباز د Phospholipase D (PLD) في تحويل العدوى من عدوى أولية إلى عدوى ثانوية. [36+18+15+14]

وثقت حوالي 20 حالة إصابة بشرية بالوتدية السلية الكاذبة، وقد ذكرت الأبحاث المسرودة بعض حالات التهاب العقد اللمفية الإبطية عند رعاة الأغنام والأطباء البيطريين، ويمكن أن تكون الإصابات البشرية أكثر مما تم تقديره. [44+38+33+17+14]

6.2. 1. 4. إمراضية الوتدية السلية الكاذبة:

تبدأ إمراضية الوتدية السلية الكاذبة عند دخول الجراثيم إلى جسم الحيوان عن طريق جروح الجلد، حيث تتكاثر وتبتلع من قبل البلاعم، وتحاول البلاعم هضمها أثناء تنقلها، إلا أن الوتدية السلية الكاذبة تتكاثر بداخلها، وعندما تتكاثر بشكلٍ كافٍ أو يصبح عددها كبير، تتسبب بموت البلاعم، وتهيء زيادة نفوذية الأوعية الدموية أرضية أولية لنشر الإصابة إلى مكان آخر (عقد لمفية في منطقة أخرى)، وتتطور الخراجات في العقد اللمفية بالطريقة الأولية أو الثانوية، وأخيراً ينفجر الخراج ويخرج منه قيح سميك متجبن يحوي عدداً كبيراً من الجراثيم الحية، وتنتقل العدوى بصورة مباشرة أثناء تلامس حيوان بآخر أو أثناء الجز، أما العدوى الثانوية فتحدث عند بقاء الجراثيم حية في البيئة المحيطة وربما يوضح هذا الأمر العوامل الأولية لنشر الإصابات. [18+15+14]

تعد المناعة الخلطية والخلوية مسؤولة عن تطور المرض، حيث تقوم الخلايا البلعمية المناعية بترشيح وبلعمة عدد قليل من جراثيم الوتدية السلية الكاذبة القادرة على قتلها، وعموماً تكون هذه الخلايا قادرة على التحكم بالمرض، وتتخلص أحيانا من الإصابة في البؤرة الأولية على الأقل، مع العلم أن الخراج قد يتكرر في نفس الجانب، ويحدث هذا عند زيادة عدد الجراثيم وتطور الإصابة إلى آفة نقيلة مما يؤدي إلى حدوث مايعرف "بمتلازمة النعجة الهزيلة". التي ينتج عنها ضعف تدريجي للحيوان ومن ثم نفوقه، وعموماً فإن الأعراض والشكل الإمراضي لمرض التهاب العقد اللمفية التجبني قد يظهر بطريقة مزدوجة على شكل آفة مرتبطة بورم حبيبي وإصابة جرثومية مزمنة منتشرة، وليس بالضرورة أن تظهر هذه الحالة بشكل دائم، فأحيانا تكون الآفة موضعية في أنسجة محددة. [32+14+8]

تبقى الوتدية السلية الكاذبة حية داخل الخلايا البلعمية حتى نهاية نضوج الخراج، [33+19+8] حيث تتمركز الجراثيم داخل هذه البلاعم لتظهر صفة حدة المرض التي تتزامن بتغيرات في حيوية الجراثيم و في شكلها من ناحية الجدار الخلوي (الدهون السطحية)، وهذه الدهون تسهل بقاء الجراثيم حية ونشيطة داخل البلاعم، علماً أن هذه الدهون ليس لها دور في تسمم خنزير غينيا الذي يعتبر حساس جداً للوتدية السلية الكاذبة وسمومها، ويعتقد بأن هذه الدهون تشكل عامل ربط جرثومي صغير لسموم هذه الجراثيم، إلا أنها ليست مميتة، وتجدر الإشارة إلى أن طريقة هذه الإمراضية تبقى غير واضحة. [52+46+15+14]

يعد الفوسفوليباز د PLD من صفات الفوعة الظاهرة لهذه الجراثيم وينتج بشكل جلي من جميع عزولات الوتدية السلية الكاذبة و الوتدية المقرّحة، وإن إنتاج الفوسفوليباز د PLD في الطور المبكر من العدوى الظاهرة له تأثير عميق في تكاثر و بقاء الوتدية السلية الكاذبة حية في جسم الحيوان المضيف، وهذا بسبب تأثيره على البلاعم من خلال كبح الانجذاب الكيميائي وزوال الحبيبات وموت العدلات بنسبة عالية، أو تأثيرها على نفوذية المتممة، حيث يقوم PLD بتعطيل المتممة وخفض قدرتها على طهاية الوتدية السلية الكاذبة، ويحث PLD على زيادة نفوذية الأوعية الدموية وهذا دور آخر يؤديه لأن زيادة النفوذية تزيد من الميوعة داخل الأوعية الدموية المحيطية، ويتيح انتشار العدوى محلياً وإلى اللمف، وفي الواقع فإن تحصين

الأغنام ضد PLD الخامل أو النشيط يحد من حركة الوتدية السلية الكاذبة إلى العقد اللمفية في موضع التلقيح في العدوى التجريبية والطبيعية، ومع زيادة العقد اللمفية المصابة يزداد حدوث العقد اللمفية المتجبنة، ثم تقوم الأجسام المضادة لـــPLD بمعادلة العامل المعزز للنفونية. [52+18+15+14]

لذا يجب زيادة أهمية التحصين ضد المرض في الحقل بشكل عام، وفي الواقع يجب إخطار المربين عن أهمية تحصين الأغنام والماعز ضد العدوى بالوتدية السلية الكاذبة، والنتيجة عموما هي دعم التنافس ومعادلة الأثر الناتج عن الفوسفوليباز د PLD ورفع المناعة الواقية من تطور الآفة عند الأغنام والماعز. [51+48+14]

6.2. 1. 5. الخواص الكيمياحيوية :

بالإضافة إلى الخواص المزرعية وتحلل الدم على الآجار المدمى من النوع بيتا، فإنها إيجابية للكاتالاز، ولا تظهر أي تفاعل على منبت اللبن بدوار الشمس، كما أنها سلبية لإماهة الجيلاتين (25°م) وسكر الأسكولين، وتعد العزولات من الماعز والأغنام سلبية لاختبار إرجاع النترات، وسلبية لتحلل اليوريا وأحيانا متغايرة، وهي إيجابية لأكسدة سكر الغلوكوز وسكر المالتوز والنشاء، وسلبية لأكسدة سكر السكروز وسكر الإكسيلوز وسكر المانيتول وسكر التريهالوز وسكر الساليسين. [21+19+17+14]

6.2. 6.1. تشخيص الوتدية السلية الكاذبة:

إن الأعراض السريرية النموذجية مع الزرع الجرثومي من الخراجات تعطي إثباتاً قاطعاً على التشخيص، حيث تظهر عزولات الوتدية السلية الكاذبة على الآجار المدمم مستعمرات بيضاء إلى رمادية شمعية، وتحدث تحلل دموي من النوع بيتا، وتتكسر تلك المستعمرات محدثة طقطقه عند تعريضها للهب، وربما تُعزل معها الشعية المقيحة والعنقوديات الذهبية في الخراجات المتشابهة في المظهر، وتساعد عدة عوامل على حدوث "متلازمة النعجة الهزيلة" وما يماثلها عند الماعز مثل الطفيليات الداخلية والتهاب الرئة المترقي في الأغنام، والتهاب المفاصل أو التهاب الدماغ في الماعز، ومرض نظير السل. [21+14]

تساهم الحساسية والنوعية العالية لاختبار المقايسة الامتصاصية المناعية للإنزيم المرتبط ELASI بشكل جيد في التحكم بالمرض، ويمكن اكتشاف حيوانات مصابة بخراجات داخلية أوغير ظاهر عليها المرض بالتصوير الشعاعي كطريقة جديدة. [30+19+14]

6.2. 7.1. التحكم بالمرض و التحصين :

يجب عزل الحيوان المصاب، ومعالجته حيث يتم شق الخراج بالمشرط وغسله باليود 2% أو بيروكسيد الهيدروجين 30%، وإذا كان كبير الحجم يتم حشوه بالشاش المنقوع بمحلول اليود، ويزال قسم من الشاش يومياً مما يساعد على التصريف والالتئام بشكل سليم، فإذا لم يتم حشوه، فيجب تنظيفه بالكلورهكسيدين أو صابون اليود ومن ثمة غمره باليود أو بيروكسيد الهيدروجين، ولا يوصى بالمعالجة بالصادات الحيوية عموماً، حيث لا يتوغل إلى داخل الخراج إلا القليل منها، وإذا كان هناك حاجة لإعطاء نوع معين، فالبنسلين هو الصاد الحيوي المختار، كما يجب تحصين الأغنام لمنع تلوث البيئة المحيطة. [51+41+14]

يعتبر التشخيص السريري لالتهاب العقد اللمفية التجبني CLA صعب جداً، بالإضافة إلى أن التنبؤ بالشفاء يعتبر ضعيف، وينصح بتنفيذ التدابير الوقائية، حيث يجب التطهير المنتظم لنصل الجز بمحلول معقم، وإزالة الأدوات المعدنية الموجودة في المرعى التي من المحتمل أن تتسبب بجروح للحيوانات، كما يجب استبعاد الإصابات المزمنة. [45+14]

يوجد لقاحين تجاريين متوفرين الأول Caseous DT (مصل شركة كولورادو، دنفر)، Glanvac (س س ل، باركفيل، فكتوريا، استراليا)، كلاهما بيع مع دمجه مع لقاح التسمم بالمطثيات، وبلغت فاعلية اللقاح حتى 90% من رد الفعل الطبيعية، مع العلم أن التلقيح لا يزيل المرض من القطيع، لكن يقلل من حدوثه و انتشاره. [37+33+14]

2.6.2. الشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes*:

كانت هذه الجرثومة تابعة لجنس الوتديات وعرفت باسم الوتدية المقيحة *Corynebacterium pyogenes*، ثم اُتبعت لجنس الشعيات وتم استبدال اسمها بالشعية المقيحة *Actinomyces pyogenes*، [10] أما الآن فقد صنفت تحت جنس جديد هو *The Genus Arcanobacterium*

والذي يشمل ستة جراثيم من ضمنها جرثومة الـ *Arcanobacterium pyogenes*، وهي عصيات مكورة ايجابية الغرام، غير متحركة.[22+18+14]

1.2.6.2. الأمراض التي تسببها الشعية المقيحة:

تسبب عند الأغنام بالإضافة إلى مشاركتها في تشكيل الخراجات، التهاب رئوي وإجهاضات والتهاب بطانة الرحم، كما تسبب عند الماعز التهاب الضرع، وعند الأبقار خراجات الكبد والتهاب في الضرع والتهاب بطانة الرحم وإجهاض والتهاب الشغاف،[34+31+29+20+10] وتسبب عند الخنازير التهاب رئوي والتهاب مفصلي إنتاني والتهاب بطانة الرحم، وعند الطيور تسبب التهاب العظام والنقي والتهاب كلوي.[18+14]

2.2.6.2. إمراضية الشعية المقيحة:

تعتبر الشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes* النوع الأكثر إمراضية للحيوانات من جنس *Arcanobacterium*، وتسكن عادة الغشاء المخاطي للمسالك التنفسية العلوية، والغشاء المخاطي للقناة المعدية المعوية، والسبل التناسلية في الحيوانات الأهلية،[8] وهي غالباً ممرضة للمجترات المنزلية والحيوانات الأخرى بشكل انتهازي.[22+18+14]

إن عوامل الفوعة في الشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes* هي التي تمكنها من الالتصاق وتشكيل المستعمرات والتكاثر في الكائن الحي، مع حدوث تأذي للكائن المضيف، فهذه الجراثيم تحلل الدم من النمط بيتا وذلك بسبب إنتاجها للبيوليسين Pyolysin (PLO) وهو ناخر للجلد ومميت، والذي يحوي على 35 % - 41 % من الحمض الأميني المطابق لحال الخلايا المرتبط بالكولسترول CBCs (Cholesterol Binding Cytolysins) والمنتج من العديد من الجراثيم ايجابية الغرام.[25+18+14]

2.2.6.2. عوامل الفوعة في الشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes*:[22+18+14]

- PLO: تدمير الخلايا بتشكيل المسام.

- البروتين المرتبط بالكولاجين Collagen binding protein: الالتصاق بالنسج الغنية بالكولاجين.
- البروتين المرتبط بالفبرينوجين Fibrinogen binding protein: البلعمة بواسطة بروتينات العدلات.
- البروتين المرتبط بالفبرونكتين Fibronectin binding protein: الالتصاق.
- ديوكسي ريبو نوكلياز (الدَّناز) Deoxyribonuclease (DNase): يتلف الأحماض النووية للمضيف.
- نيورامينيداز Neuraminidases: التعرض للمستقبلات "يخفض من لزوجة المخاط " يخفض نصف عمر الغلُوبولينٌ المَناعِيّ المُفْرز A Secretory Immunoglobulin A (SIgA).
- بروتياز Proteases: اكتساب الغذاء " يسرع من انحلال الـــSIgA.

ترْتبط الشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes* بالفبرونكتين والكولاجين، وإن حدوث الطفرة المورثية للبروتين المرتبط بالكولاجين يخفض من قدرة الجراثيم على الالتصاق بالخلايا في الأوساط الزجاجية، ويزيل الدناز بلمرة الدنا المتحرر العدلات، ويسمح للجراثيم بالاقتراب من النيوكليوتيدات وربما يسهل عليها الغزو، يرمز نشاط أنزيم النيورامينيداز باستخدام نوعين مختلفين من المورثات، ويسهل الارتباط بالخلايا، وربما ينزع حمض السالسليك والتعرض للمستقبلات، يؤدي البروتياز مع الكازيناز أو الجلاتيناز أيضاً دوراً في الإمراضية، بالرغم من عدم وجود دليل إجْباريّ تجريبي.[34+20]

يساعد الضرر الفيزيائي أو الجرثومي في إثْبات أن الجرثوم متعايش بشكل طبيعي في الأجهزة المختلفة، بما فيها غدة الثدي والجهاز التناسلي والمفاصل والجلد والأمعاء.[22+20]

تحدث خراجات الكبد بنسبة 60%-80% في ماشية التسمين المغذاة على أعلاف عالية الطاقة، وينتج عنه إنخفاض في التحويل واستبعاد الأكباد المصابة في المسالخ، كما تساهم المغزلية النخرية بشكل اعتيادي في هذا النوع من الإصابات وقد عزلت من هذه الخراجات،

لكن الشعية المقيحة وجدت تقريبا بنسبة 90%، وهذه النسبة بدون وجود المغزلية النخرية *Fusobacterium necrophorum*.. [34+31+29+20]

تحث التغذية بالأعلاف الغنية على حدوث حمّاض كرش، فتنمو الجراثيم مخربة النسيج الحليمي للكرش، وترتشح المستعمرات المجهرية إلى الدورة الدموية البوابية، وتتهمر على الكبد بشكل خثرات إنتانية، مع تشكل للخراجات لاحقا. [29+25+18+14]

تسبب الشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes* التهاب الضرع القيحي، الذي يؤثر على الأبقار الجافة، وكذلك الحيوانات الأخرى، خاصة إذا كانت الحلمات مجروحة، ويسهل انتشار العدوى تلوث آلات الحلابة ولدغ الحشرات، ويعتبر التهاب الرحم عند الأبقار شائع أيضا، حيث ينتج عنه التهاب بطانة الرحم و العقم، خاصةً في فترة النفاس. [18+14]

3.2.6.2. تشخيص الشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes* :

يتم تشخيص الإصابة بالشعية المقيحة بعزلها والتعرف عليها من موقع الآفة، حيث تنمو مستعمرات بقياس 0.5 ملم، محاطة بمنطقة ذات تحلل دموي من النوع بيتا. [20+14]

4.2.6.2. الخواص الكيمياحيوية:

بالإضافة إلى نوع التحلل الدموي فإنها سلبية للكاتالاز واليورياز وإرجاع النترات، أما على منبت اللبن بعباد الشمس فتفاعلها حمضي نتيجة أكسدة سكر اللاكتوز، وتتشكل خثرة يتم هضمها فيما بعد، كما أنها تحلل مصل الدم المخثر للوفلر، وهي ايجابية لإماهة الجيلاتين وأكسدة سكر الغلوكوز وسكر اللاكتوز وسكر المالتوز وسكر السكروز والنشاء، وسلبية لأكسدة سكر التريهالوز وسكر الساليسين. [20+14]

5.2.6.2. التحكم و الوقاية:

يعد التكهن في حال التهاب الضرع ضعيفاً، وذلك لأن المعالجة بالمضادات الحيوية عادة ما تكون غير مجدية، وبالإضافة إلى فقد وظيفة الربع المصاب، ويكون الأثر الاقتصادي للشعية

المقيحة كبيراً ومتناسباً مع نسبة حدوث المرض، أما بالنسبة لمعالجة خراجات الكبد فهي غير عملية، ويستخدم التايلوزين بشكل واسع حيث يضاف مع الأعلاف كوقاية. [31+20+14]

فشل التحصين بالجراثيم المعطلة أو المستعمرات المرشحة بشكل كبير في إعطاء حماية للحيوانات الأهلية ضد العدوى بالشعية المقيحة، وقد بُذل مجهود كبير من أجل تصنيع لقاح وحيد لــPLO والذي ينتج عنه معيار عالي من المناعة لدى الحيوانات، ويمنع نفوق الفئران بالعدوى التجريبية، ولا يوجد منتج تجاري قانوني في المملكة المتحدة. [14]

3.6.2. جنس العنقوديات The Genus Staphylococcus:

عائلة المكورات تشمل جراثيم مكورة حيهوائية ايجابية الغرام، ويقسمها إنتاج الكاتالاز إلى مجموعتين، مجموعة ايجابية الكاتالاز مثل جنس المكيرات وجنس العنقوديات، ومجموعة سلبية الكاتالاز مثل جنس العقديات وجنس المكورات المعوية. [14]

تعد العنقوديات الأكثر عزلاً من عائلة المكورات من العينات السريرية البيطرية، وتنتظم بشكل أزواج أو في مجموعات تشبه العناقيد أو تكون منفردة، وتتلون المستعمرات عموماً بلون ابيض أو ابيض مصفر، مع سطح أملس وقوام زبدوي، تملك العديد من ذراري العنقوديات الذهبية صباغ ذهبي ومنه أخذت هذه الجراثيم أسمها، ويمكن تفريق جنس العنقوديات عن المكيرات من خلال شكل الخلايا حيث أن الأخيرة تنتظم بشكل رباعيات وتميل خلاياها إلى أن تكون اكبر من العنقوديات، ويفرق بينها أيضا من خلال إنتاج الأصبغة على الأوساط الصلبة و تخمير سكر الغلوكوز. [20+14]

يوجد 32 نوعاً معروفاً من العنقوديات الممرضة، 19 نوعاً منها تصيب مختلف الحيوانات بدون أفضلية، و 13 نوعاً منها تصيب الإنسان، وهي جراثيم حيهوائية أو لاحيهوائية مخيرة، وهي قادرة على توليد الطاقة تنفسياً وعن طريق التخمير، وهي نَيِّقة Fastidious أو مُرْهَفة (لها احتياجات تغذوية واسترراعية معقدة)، وتحتاج إلى مركبات النيتروجين، ومعظم الأنواع تحتاج إلى مختلف الأحماض الأمينية، والفيتامينات (الثيامين، النياسين)، واليوراسيل في

الأوساط كامل التغذية والمعقدة وذلك للنمو اللاهوائي، وتحتاج هذه الأحياء عموماً 20 دقيقة من الوقت تقريبا للنمو. [14]

يتركب الجدار الخلوي للعنقوديات أولا من مركب ببتيدوجليكان Peptidoglycan وحمض تيكوئيك Teichoic acid، والمقاوم لأنظيمات الهضم كميزة لأسئله حمض الموراميك المتبقي Muramic acid، ويشكل حمض التيكوئيك في العنقودية الذهبية العمود الفقري لقاعدة السكر الكحولي، في حين أنه عند العنقودية البشروية يشكل قاعدة الغليسيرول، وفي الأنواع الأخرى فأن حمض غليسيرول التيكوئيك عموماً يشكل نسخة من السكر الكحولي. [20+14]

يوجد 11 نمطاً مصلياً محفظياً عديد السكريد تصنف العنقودية الذهبية، ومعظم الأنماط التي تم عزلها سريريا من الحيوانات هي من النوعين 5 و8، تتركب المحفظة بشكل رئيسي من حمض ن-أستيل امينويورونيك N-acetylaminouronic acids و ن-اسيتيل فوكوسامين N-acetylfucosamine. [18+14]

تزوّد العنقوديات بالعديد من البلازميدات والتي يصل حجمها تقريباً إلى حوالي 50 kb زوج، وتعتبر معظم البلازميدات الصغيرة مسؤولة عن تشفير المقاومة لنوع أو أكثر من الصادات الحيوية، وتشفر غالبية البلازميدات الكبيرة المقاومة ضد البنسلين أو المعادن الثقيلة. [14]

1.3.6.2. أنواع العنقوديات التي لها أهمية في البحث:

1. العنقوديات الذهبية *Staphylococcus aureus*: تحدث العدوى بها عن طريق الجروح في جميع الحيوانات فتسبب التهاب ضرع وإصابة جلدية، وإصابات مفصلية بشكل خاص في الدواجن، وإسهال في طيور الزينة، وإصابة غمديه في الكلاب والخيول. [20+14]

2. تحت نوع العنقوديات الذهبية اللاحيهوائية *Staphylococcus aureus ssp. anaerobius*: تم عزلها أحيانا من التهاب العقد اللمفية التجبني. [20+14]

3. العنقوديات البشروية *Staphylococcus epidermidis*: وهي ممرضة بشكل انتهازي فتسبب خراجات في الجلد عند جميع الحيوانات، والتهاب الضرع عند الأبقار. [20+14]

4. العنقوديات أنتوس *Staphylococcus ientus*: وهي متعايشة بشكل طبيعي على الجلد والأغشية المخاطية عند الأغنام والماعز. [20+14]

2.3.6.2. المرض و الإمراضية:

يحدث التلوث بالعنقوديات بشكل عابر أو مؤقت، أو بشكل تكراري قصير الأمد مستوطن، أو طويل الأمد مشكلاً مستعمرات على جلد الثدييات، وتسبب معظم العنقوديات الذهبية العدوى عند التماس مع الجلد أو الغشاء المخاطي، حيث يبدأ الخمج باختراق الطبقة الظهارية أو المتقرنة أو المخاطية أو الملتحمة، ويتم توطيد الخمج بوجود الأجسام الغريبة مثل ميل (القثطرة) أو الخيط الجراحي أو الرضوض السطحية. [20+18+14]

تكون فوعة العنقوديات عند الحيوانات الأهلية تقريبا متعددة العوامل، لكن تأثيرها على الحيوان المضيف دائماً يتضمن القليل من المراحل الشائعة، تنتج مركبات سطحية جرثومية تعرف بأنها جزيئات مطراق لاصقة MSCRAMMs، والتي تشكّل اللاصق الرئيس للجرثوم والذي يتضمن البروتين المرتبط بالكولاجين، والبروتين المرتبط بالفبرونكتين، والبروتين المرتبط بالفبرينوجين، والبروتين المرتبط بالايلاستين، وعامل التراص، وعامل التصاق المطراق، كما أن هناك 12 بروتيناً سطحياً آخراً تحوي مثبتات غشائية نطاقية، والتي توصف بـ MSCRAMMs، إن دَوْر تلك العوامل في الفوعة من الأمور المسلم بها لكن لم يتم إثباتها عند حدوث الخمج في الحيوانات الأهلية. [18+14]

3.3.6.2.عوامل الفوعة في العنقودية الذهبية:

1. المحفظة Capsule: تثبط البلعمة، تعزز الالتصاق.

2. ببتيدوغليكان Peptidoglycan: الانجذاب الكيميائي للكريات البيض، إزالة عوامل المتممة.

3. حمض التكوئيك Teichoic acid: الارتباط بالفبرونكتين.

4. بروتين A Protein A: الارتباط بالغلوبيولين المناعي.

5. الذيفانات (ألفا، بيتا، الخ) Toxins (β,α, others): مضاد للبلعمة، سامة للخلايا.

6. الذيفانات التَقَشُرِيّة Exfoliative Toxins: بروتياز السيرين Serine Proteases، ابتعاد الجسور الخلوية في الطور الحبيبي.

7. الذيفانات المعوية Enterotoxins: مستضد فوقي، ممرض، مسهل.

8. متلازمة الصدمة السمية بالذيفان Toxic Shock Syndrome Toxin: مستضد فوقي، تخريب بطاني.

9. المخثراز Coagulase: تحويل الفبرينوجين إلى فبرين.

10. الهيالورونيداز Hyaluronidase: حلمهة حمض الهيالورونيك في النسيج الضام.

11. الليباز Lipase: حلمهة الدهون.

12. النيوكلياز Nuclease: حلمهة حمض دِيُوكسي رِيبُونيوكِليك DNA.

إن إجمالي توزع العنقوديات كنبيت طبيعي في الحيوانات الأهلية ربما تكون أكثر عوامل الوبائية أهمية لإمراض العنقوديات، كما أن توافر جراثيم ذات فوعة تشترك مع عوامل مرتبطة بالمقاومة وصحة الحيوان لها دور في حدوث غالبية الإصابات بالعنقوديات. [20+18+14]

3.3.6.2. تشخيص العنقوديات:

يفضل أن يتم الزرع الأولي للعنقوديات على الآجار المدمى، رغم توفر الأوساط التمييزية (آجار المانيتول المالح، آجار العنقوديات 110)، وتتلون المستعمرات عموماً بلون ابيض إلى أبيض ضارب للصفرة مع سطح أملس لماع وقوام زوبدي المظهر، وتنتج العنقودية الذهبية أحيانا صباغ أصفر، ويظهر الفحص المجهري للمستعمرات المعزولة مكورات إيجابية الغرام مفردة أو على شكل أزواج أو مجموعات تشبه عنقود العنب، ويعد اختبار المخثراز وتحديد

نمط التحلل الدموي من الاختبارات الأولية المهمة، ويتم التأكيد عليها باستكمال الاختبارات الكيمياحيوية أو استخدام المساطر التجارية الخاصة بالعنقوديات. [14]

4.3.6.2. الخواص الكيمياحيوية :

1.4.3.6.2 الخواص الكيمياحيوية للعنقودية الذهبية:

بالإضافة إلى كونها محللة للدم وإيجابية الكاتالاز فإنها ايجابية لإماهة الهلام وارجاع النترات والفوسفاتاز والهيالورونيداز وفوجس برسكوار والمخثراز، وهي مخمرة لسكر المانيتول والغلوكوز والسكروز واللاكتوز والمالتوز والتريهالوز، وغير مخمرة لسكر الارابينوس والرافينوز. [20+14]

2.4.3.6.2 الخواص الكيمياحيوية للعنقودية البشروية:

ويتم تفريقها عن العنقودية الذهبية بأنها غير محللة للدم وسلبية لإماهة الهلام، وسلبية للمخثراز، وغير مخمرة لسكر المانيتول والتريهالوز. [20+14]

5.3.6.2. التحكم و الوقاية:

يسبب تكرار التعرض للعنقودية الذهبية والبشروية زيادة عالية في انتشار الأجسام المضادة في مختلف أنحاء الجسم وذوبان مكونات العنقوديات، وبالرغم من ذلك فإن العدوى السابقة تفشل في تشكيل مناعة تمنع عودة العدوى. [14]

4.6.2. جنس العقديات The Genus Streptococcus :

العقديات جراثيم ايجابية الغرام، لاحيهوائية مخيرة، سلبية الكاتالاز، غير مشكلة للأبواغ، غير متحركة، تنتظم خلاياها تحت المجهر بشكل مفرد أو سلاسل، وهي ذات احتياجات تغذوية معقدة ومختلفة، وبشكل عكسي فإنها تتأقلم بشكل متعايش أو متطفل في شريحة واسعة من الحيوانات الفقارية. [14]

حتى الثلث الأول من القرن العشرين كان يتم تفريق العقديات على أساس التحلل الدموي وتخمير السكاكر والتفاوت في الاختبارات الكيمياحيوية، وفي وقت مبكر من عام 1930 طورت ربيكا لانسفيلد Rebecca Lancefield مخططاً أساسياً لتقسيمها لمجموعات يعتمد على مستضد نوعي خاص من السكريات على الجدار الخلوي، والذي صنفها الى المجموعات من A إلى H ومن K إلى V، العقديات الممرضة للحيوان تنتمي إلى المجموعات A و B و C و D و E و G و L و V، بالإضافة إلى العقديات يوبيروز *Streptococcus uberis* والعقديات باروبرايز *Streptococcus parauberis* والعقديات الرِّئَوِيَّة *Streptococcus pneumoniae* وهي غير مصنفه إلى المجموعات. [14]

4.6.2. 1. المرض والإمراض للعقديات Streptococcus:

العقديات المقيحة *Streptococcus pyogenes* من المجموعة A (group A) هي إيجابية الغرام ممرضة خارج خلوية بشكل نموذجي، وتسبب التهاب البلعوم والقَوْباء وحمى روماتزميّة والْتِهابُ الكُبَيباتِ الكُلَوية الحاد عند الإنسان، والذي نادراً ما يكون سببه التهاب الضرع عند الأبقار، حيث يحمل غالباً بالحليب. [20+18+14]

يعتبر البشر الثوي الخازن الرئيس للعقديات من المجموعة A، مع الأخذ بعين الاعتبار ملاحظات أطباء الأطفال المتكررة التي تشير إلى وجود رفيق حيواني كمصدر للعدوى عند الأطفال، ويؤكد الدليل المؤيد والمضاد لهذا الاستنتاج بأن الحيوانات الصغيرة تصبح أكثر إيجابية للزرع عند التماس مع الأطفال المصابة بالعقديات. [18+14]

4.6.2. 2. تشخيص العقديات Streptococcus:

يجب أن يشمل تشخيص أمراض العقديات العزل والتعرف على المسبب المرضي، ويتم التأكد من من هوية العقديات بالفحص الشكليائي والتحلل الدموي للمستعمرات المعزولة، حيث تظهر العقدية المقيحة *Streptococcus pyogenes* ثلاث أنواع من المستعمرات مستعمرات مُخَاطِيّة ومستعمرات لَمَّاعة ومستعمرات كامِدة أوباهتة (غير براقة) مع تحلل دموي من النوع بيتا، حيث تحدد الصفات الشكليائية الخلوية بالفحص المجهري للطاخة المصبوغة بصبغة

غرام، وقدرة العقديات على إنتاج أنزيم الكاتاليز، والذي يعتبر من العوامل الأساسية للتعرف عليها. [14]

3.4.6.2. الخواص الكيمياحيوية للعقدية المقيحة:

بالإضافة إلى كونها سلبية للكاتاليز فهي سلبية لاختبار فوجس برسكاور والتحليل المائي (حَلْمَهَة) لسكر الاسكولين، وسلبية لتخمير سكر الريبوز والارابينوز والسوربيتول والمانيتول والرافينوز، وايجابية لتخمير سكر الغلوكوز والسكروز والتريهالوز واللاكتوز. [20+14]

7.2. المعالجة بالمضادات الحيوية:

إن من أهم أسباب هدر الصادات الحيوية عند معالجة الخراجات وجود جدار الخراج السميك الذي يمنع وصول المضاد الحيوي إلى داخل الخراج ويشكل خط حماية أول للمسببات الجرثومية، لذا يعتبر الحل الجراحي بتصريف الخراج وغسله باليود أو أي مطهر آخر إجراءاً ناجعاً. [40+5]

كما أن استعمال المضادات الحيوية غير فعال في معالجة التهاب العقد اللمفية التجبني، ويساعد استخدام السياسة الصحيحة في تقليل حدوث الإصابات في القطيع، مع المراقبة الروتينية للقطيع بالفحص البصري وملاحظة وجود الخراجات، وإذا كان هناك نوع معين يفضل استخدامه فهو البنسلين كما يجب تحصين الأغنام لمنع تلوث البيئة المحيطة. [40+33+14]

الفصل الثالث

المواد و طرائق العمل

Materials & Methods

الفصل الثالث

3. المواد و طرائق العمل

Materials & Methods

1.3 المواد:

1.1.3 العينات Samples:

1.1.1.3 القيح Pus:

بالنسبة للخرّاجات المغلقة تم حلق الشعر وتعقيم الجلد مكان الشق بمشرط معقم ويسحب القيح بواسطة محقن معقمة، حيث تم جمع 131 عينة.

2.1.1.3 ماسحات قطنية Cotton Swabs:

أما بالنسبة للخرّاجات المفتوحة فتم تعقيم الفتحة الخارجية بشكل جيد ثم تحك الماسحة جيداً بالجدار الداخلي للخراج بقوة، حيث تم جمع 169 عينة.

تم زراعة العينات في مرق مغذي معقم حاوي على الغلوكوز و مصل الدم المعقم بالترشيح بالنسب التالية (1%،10%) ومرق الثيوغليكولات ونقلها إلى المختبر وحضنها لمدة يومين على الأقل ومن ثم زراعتها على الأوساط الصلبة.

3.1.1.3 البيانات:

أُخذت العينات من القطعان التي بلّغ أصحابها عن مشاهدتهم للخرّاجات السطحية فيها، تم إجراء هذه الدراسة على 127 قطيع من محافظة ديرالزور في المنطقة الشرقية، وتراوح عدد الأغنام في كل قطيع بين 25 إلى 750 رأس، وتم تسجيل العينات المأخوذة من القطعان كل قطيع على حدة في استبيان لجمع العينات المعد مسبقاً لهذا الغرض والذي هو على الشكل التالي:

استبيان جمع العينات

اسم المربي: / / العدد الكلي للقطيع:/ / رقم المربي:/ /

عدد الذكور الكبيرة:/ / عدد الإناث الكبيرة:/ / التاريخ: / /

عدد الذكور الصغيرة:/ / عدد الإناث الصغيرة:/ / عدد الحيوانات المصابة:/ /

عدد الخراجات الكلي:/ / طبيعة المرعى– نوعية العلف (خشن او ناعم) – طبيعة التربية

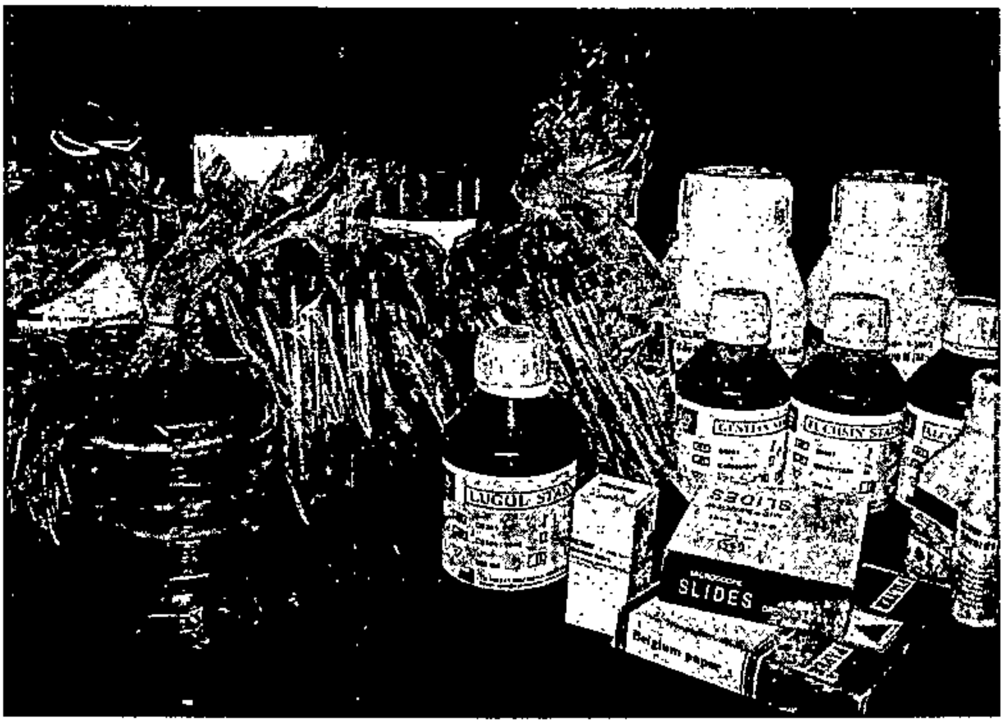
جدول رقم (1) تابع استبيان جمع العينات.

رمز الحيوان																
جنس الحيوان																
عمر الحيوان																
مكان الخراج																
حجم الخراج																
نوع الخراج																
رقم العينة																
نوع العينة																
لون القيح																

2.1.3 الصباغات المستعملة Used Stains:

1.2.1.3 صبغة غرام Gram Stain:

وتستعمل هذه الصبغة لمعرفة شكل الجراثيم ونوع التفاعل الإيجابي لصبغة غرام **(G+ve)** أو السلبي لصبغة غرام **(G-ve)**.



صورة رقم (1) الأوساط والأصباغ والمواد المستخدمة في البحث.

3.1.3 الأوساط الزرعية المستخدمة Culture Media:

1.3.1.3 وسط أساس الآجار المدمى Blood Agar base Medium:

تم استعمال المسحوق المجهز من شركة Himedia حسب تعليمات الشركة، ثم تم إضافة دم الأغنام المنزوع الفبرين بنسبة 10% عند درجة 45-50°م، وذلك بعد تعقيم الوسط في الموصدة عند درجة 120°م تحت الضغط لمدة 15 دقيقة.

استخدم هذا الوسط باعتباره وسط عام للزرع الجرثومي وكذلك لدراسة خاصية تحلل كريات الدم الحمراء Haemolysis من قبل بعض أنواع الجراثيم التي تفرز أنظيم الهيموليزين و الخواص الشكلية للمستعمرات النامية.

2.3.1.3 وسط آجار الماكونكي MacConkey Agar Medium:

تم استعمال المسحوق المجهز من قبل شركة Himedia وذلك لزراعة وتمييز عائلة الجراثيم أمعائية Enterobacteriaceae وبعض الجراثيم السلبية الغرام ودراسة الخواص الشكلية للمستعمرات الجرثومية.

3.3.1.3 وسط الآجار المغذي Nutrient Agar Medium:

وهو وسط مغذي لنمو اغلب أنواع الجراثيم والكشف عن الأصباغ التي تنتجها بعض الأنواع الأخرى.

4.3.1.3 وسط آجار المانتول المالح (آجار شابمان ستون) Mannitol Salt Agar (Chapman Stone Agar):

وهو منبت انتقائي لجراثيم العنقوديات ويحتوي على نسبة عالية من كلوريد الصوديوم والذي يثبط نمو الجراثيم الأخرى وهو من إنتاج شركة Himedia.

5.3.1.3 وسط آجار الصويا المهضوم Tryptic Soy Agar:

استخدم المسحوق المحضر من شركة Himedia، وقد استعمل الوسط باعتباره وسط عام للنمو الجرثومي و لتنقيتها و كذلك لحفظ بعض الأنواع على الآجار المائل.

6.3.1.3 وسط باركر (وسط أساس الآجار المدمى بالأزيد وبنفسجية الكريستال) Crystal Violet-Azide Blood Agar:

استخدم المسحوق المحضر من شركة Himedia، وأضيف له دم الأغنام بنسبة 5% حسب تعليمات الشركة، استعمل هذا الوسط لعزل وتمييز مستعمرات العقديات *Streptococcus* وملاحظة تحلل الدم الذي يكون أكثر وضوحا على هذا المنبت.

7.3.1.3 المرق المغذي Nutrient Broth:

يستخدم هذا المرق لنمو أغلب أنواع الجراثيم.

8.3.1.3 المرق المغذي بالمصل Serum broth:

هو نفسه المرق المغذي مضاف إليه مصل الدم المعقم بالترشيح بنسبة 10% عند درجة حرارة 45-50 °م.

9.3.1.3 مرق السكريات Sugars Broth:

وهو عبارة عن ماء الببتون والمضاف إليه عدة أنواع من السكريات كل على انفراد مثل الغلوكوز، واللاكتوز، والمالتوز، والسكروز، الخ ......، مع وجود كاشف تستعمل هذه الأوساط لاختبار قدرة الجراثيم على أكسدة وتخمير السكريات.

10.3.1.3 مرق الثيوغليكولات Thioglycolate Broth:

وسط سائل مغذي يستعمل لإنماء الجراثيم التي تحتاج إلى مواد تغذوية معقدة وخاصة الجراثيم اللاهوائية، كونه وسط مختزل للأوكسجين لاحتوائه على ثيوغليكولات الصوديوم، وهي مادة مختزلة وتحافظ على توتر منخفض للأكسجين في الوسط وهي من إنتاج شركة Himedia الهندية.

11.3.1.3 مرق نقيع القلب والدماغ Brain Heart Infusion Broth:

ويستخدم هذا الوسط من اجل تنشيط الجراثيم للاختبارات الكيمياحيوية وهو من إنتاج شركة Himedia.

12.3.1.3 وسط الآجار المغذي نصف الصلب Semi Solid Medium:

يستخدم من اجل الكشف عن حركة الجراثيم وهو عبارة عن مرق مغذي مضاف له الآجار بنسبة 5-7 %.

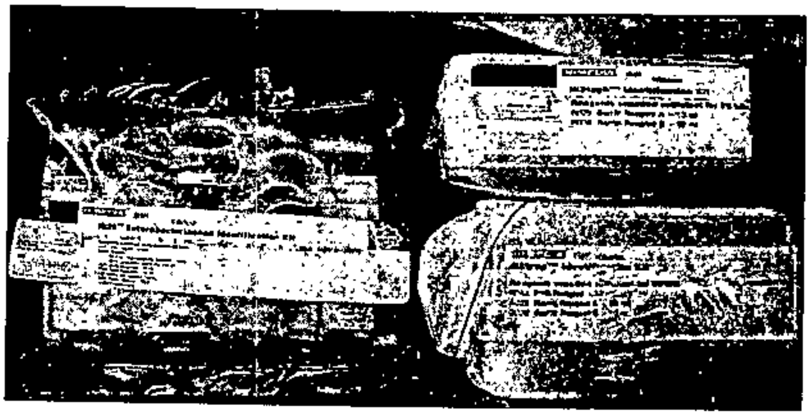
13.3.1.3 آجار مولر هنتون Muller Hinton Agar:

يستخدم هذا المنبت من اجل اختبار حساسية الجراثيم تجاه المضادات الحيوية وهو من إنتاج شركة Himedia.

4.1.3 المحاليل و الكواشف المستخدمة:

1.4.1.3 المحاليل المستخدمة Solutions:

- محلول ملحي فزيولوجي معقم Saline Solutions 0,85% ، يستخدم لتمديد بلازما دم الأرانب في اختبار المخثراز لتمييز العنقوديات المفرزة لأنظيم المخثراز، وكذلك لتحضير معلق جرثومي متجانس للاختبارات الكيمياحيوية.
- سترات الصوديوم 4% وهو مانع تخثر يضاف إلى دم الأرانب.
- ماءات الصوديوم NaOH 40% يستخدم في اختبار الفوسفاتاز.
- تلوريت البوتاسيوم Potassium Tellurite 1%، يضاف إلى الآجار المدمى لتمييز وعزل مستعمرات الوتديات والعنقوديات، حيث تقوم هذه الجراثيم باستقلاب التلوريت مما يعطي المستعمرات اللون الأسود أو البني.
- ماءات البوتاسيوم KOH 3%، يستخدم من اجل التفريق بين الجراثيم ايجابية الغرام وسلبية الغرام حيث يتم مزج مستعمرات الجراثيم سلبية الغرام مع هذا المحلول فيتكون مزيج مخاطي القوام بينما الجراثيم إيجابية الغرام لا تعطي هذا القوام.
- بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 3% يستخدم في اختبار الكاتالاز.
- كحول إيثيلي 95% استخدم في تعقيم الجلد عند اخذ العينات.
- محلول لوغول (ايودين) استخدم في تعقيم الجلد وفوهة الخراج المفتوح.
- زيت البرافين استخدم من اجل اختبار تخمير السكاكر.
- زيت الأرز Oil Of Cedar Wood استخدم للفحص المجهري بالعدسة الغاطسة.
- اكزيلول Xylole.



صورة رقم (2) كواشف العتائد.

2.4.1.3 الكواشف المستخدمة Reagents:

- أقراص اختبار الأوكسيداز من شركة Himedia.

- كاشف أندريد يستخدم في اختبار أكسدة و تخمير السكاكر.

- الكواشف (A reagents، B reagents) جاهزة مع عتيدة الاختبارات الكيمياحيوية الخاصة بالعنقوديات HiStaph™ Identification kit، والخاص بالعقديات HiStrep™ Identification kit، حيث تضاف للحفرة رقم (1) في مسطرة الاختبارات الكيمياحيوية، والحفرة رقم (9) في عتيدة الاختبارات الكيمياحيوية الخاصة بالأمعائيات Hi ™ Enterobacteriaceae Identification kit للكشف عن نتيجة اختبار فوجس بروسكاور.

- كاشف (PYR reagents) جاهزة مع عتيدة الاختبارات الكيمياحيوية الخاصة بالعقديات حيث تضاف للحفرة رقم (3) في مسطرة الاختبارات الكيمياحيوية للكشف عن فاعلية أنظيم PYR.

- كاشف (TDA reagents) جاهزة مع عتيدة الاختبارات الكيمياحيوية الخاصة بالأمعائيات Hi ™ Enterobacteriaceae Identification kit، حيث تضاف للحفرة رقم (5) في مسطرة الاختبارات الكيمياحيوية للكشف عن فاعلية نزع الحمض الأميني فينيل آلانين.

- الكواشف (N,N-Dimethyl-1-Napthylamine Reagents،sulphanilic acid) وهي جاهزة مع عتيدة الاختبارات الكيمياحيوية الخاصة بالأمعائيات Hi™ Enterobacteriaceae Identification kit، حيث تضاف للحفرة رقم (6) في مسطرة الاختبارات الكيمياحيوية للكشف عن إرجاع النترات.

- كاشف احمر الميثيل(Methyl Red reagent) جاهزة مع عتيدة الاختبارات الكيمياحيوية الخاصة بالأمعائيات Hi ™ Enterobacteriaceae Identification kit ، حيث تضاف للحفرة رقم (10) في مسطرة الاختبارات الكيمياحيوية للكشف عن إنتاج الحمض.

- كاشف كوفاك (Kovac's reagent) جاهزة مع عتيدة الاختبارات الكيمياحيوية الخاصة بالأمعائيات Hi ™ Enterobacteriaceae Identification kit، حيث تضاف للحفرة رقم (11) في مسطرة الاختبارات الكيمياحيوية للكشف عن نزع الحمض الأميني التربتوفان.

5.1.3 الاختبارات الكيمياحيوية:

1.5.1.3 اختبار الكاتالاز Catalase Test:

يستخدم هذا الاختبار لمعرفة أنواع الجراثيم التي لها القابلية على تجزئة بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 3%، فعند إضافة قطرة من بيرو كسيد الهيدروجين إلى مستعمرة جرثومية تتصاعد فقاعات هوائية بعد بضعة دقائق للدلالة على النتيجة الإيجابية، وذلك على الآجار المغذي لأن الآجار المدمى حاوي على كريات الدم الحمراء الحاوية على أنظيم الكاتالاز.

2.5.1.3 اختبار الأوكسيداز Oxidase Test:

يستخدم هذا الاختبار لمعرفة أنواع الجراثيم الحاوية على أنظيم الاوكسيداز وذلك باستخدام قرص ورقي مشبع بمحلول Tetra Methyl- p- Phenediamine من شركة Himedia

مع إضافة عدد من المستعمرات الجرثومية المراد اختبارها، نلاحظ تلون الورقة بلون بنفسجي أو ازرق بعد مرور عشر ثواني في حالة النتيجة الإيجابية.

3.5.1.3 اختبار المخثراز Coagulase Test:

يستخدم هذا الاختبار للكشف عن إمراضية جراثيم العنقوديات الحاوية على هذا الأنظيم، ويستعمل للكشف عنه بإضافة 0.5 مل من مصل دم الأرانب أو الإنسان المخففة مع 4:1 من محلول ملحي إلى المرق المغذي الحاوي على الجراثيم المراد اختبارها، ومن ثم يوضع في محم مائي بدرجة حرارة 37°م، ويتم فحصها بعد مرور 4 و24 ساعة على التوالي فتتكون خثره مصلية صلبة في أسفل الأنبوب دلالة على النتيجة الإيجابية.

4.5.1.3 اختبار إماهة الهلام Gelatine Hydrolysis:

يستخدم هذا الاختبار للكشف عن أنواع الجراثيم الحاوية على الأنظيم المميع للجيلاتين Gelatinase حيث يتكون هذا الوسط من المرق المغذي المعقم مضافاً إليه مادة الجيلاتين بنسبة 10-15%، حيث يترك الجيلاتين لمدة 15 دقيقة في المرق في درجة حرارة الغرفة، وبعدها يتم طبخه لمدة 15-30 دقيقة في محم مائي، ثم يعبئ في أنابيب معقمة حيث يتم تعقيمها بالتندلة (التبخير عند درجة حرارة 100°م لمدة 20 دقيقة على مدار ثلاث أيام متتالية)، يحقن المنبت بالوخز ويحضن عند درجة حرارة 37°م لفترة قد تصل إلى سبعة أيام، وتقرأ النتيجة بشكل يومي وذلك بوضع الأنابيب مدة نصف ساعة أو اقل في البراد عند درجة حرارة 4°م، فإذا بقي المنبت سائلاً فان النتيجة ايجابية وإذا تصلب المنبت تكون النتيجة سلبية.

5.5.1.3 تخمير السكاكر أو أكسدتها Oxidation And Fermention:

يتألف من ماء الببتون مضاف إليه 1% من السكر المختبر و1% من كاشف أندريد Andrade Reagent كمشعر لحموضة الوسط PH، تستعمل هذه الأوساط لاختبار قدرة الجراثيم على تخمير السكاكر وأكسدتها، ويتم تحضينها عند درجة حرارة 37°م لمدة 12-24 ساعة حسب نوع الجراثيم، ويستخدم زيت البرافين في اختبار التخمير لعزل المرق عن

الهواء، وقراءة الاختبار سهلة حيث إن كاشف أندريد يكون عديم اللون في الوسط المتعادل وبعد التخمر ونتيجة هبوط PH الوسط يتحول إلى اللون الوردي فتكون النتيجة إيجابية.

6.5.1.3 اختبار حلمهة البولة Production of Urease Enzyme:

يستعمل للكشف عن وجود انظيم اليورياز Urease، حيث يقوم بالتحلل المائي لليوريا لإنتاج الأمونيا والتي تعمل على رفع الأس الهيدروجيني PH إلى القاعدية حيث تعطي اللون الوردي الغامق عند النتيجة الإيجابية.

7.5.1.3 اختبار إرجاع النترات Reduction of Nitrate:

تقوم بعض الجراثيم بإرجاع النترات إلى نتريت.

8.5.1.3 التفاعل على منبت اللبن بعباد الشمس Reaction on Litmus Milk:

يعتبر من المنابت الغنية، ويستخدم للكشف عن تأثير الجراثيم على كل من سكر اللاكتوز والكازيئين وبروتينات الحليب والقدرة على تخثير الحليب وهضم الخثرة، تم استخدام المسحوق المحضر من شركة Himedia، حيث تم تحضير المنبت حسب تعليمات الشركة ثم طبخ لمدة ساعة في محم مائي وعبأ في أنابيب معقمة حيث تم تعقيم الأنابيب الحاوية على المنبت بالتندلة (التبخير عند درجة حرارة 100°م لمدة 20 دقيقة على مدار ثلاث أيام متتالية)، تحقن الجراثيم المراد الكشف عنها في المنبت وتحضن عند درجة حرارة 37°م لمدة 48-72 ساعة حسب نوع الجراثيم، وتقرأ النتائج حسب التغييرات التالية:

- لون بنفسجي: نتيجة سلبية أي عدم نمو، أو الأنبوب الشاهد.
- لون احمر والمنبت سائل: تخمر سكر اللاكتوز.
- لون احمر والمنبت جامد: تخمر سكر اللاكتوز مع تخثر البروتين.
- لون ابيض والمنبت جامد: اختزال لون الكاشف بعد التخمر مع تخثر البروتين.
- سائل اصفر مع تخثر لونه ابيض: البدء في هضم الخثرة.

- سائل اصفر شفاف: هضم كامل للخثرة.

9.5.1.3 تحليل منبت المصل المخثر للوفلر Loffler s Serum Medium:

يستخدم لحفظ الجراثيم لفترة طويلة، وكذلك الكشف عن قدرة بعض الجراثيم مثل الشعية المقيحة على تحليل المصل المخثر، ويتركب من 3 أجزاء من مصل دم أبقار معقم، و1 جزء من مرق مغذي بالجلوكوز، وبعد مزجهما معا يخثر المنبت عند درجة حرارة 70-80°م في المجففة لمدة 1-2 ساعة وعلى مدار ثلاثة أيام متتالية للتعقيم.

10.5.1.3 مساطر كيمياحيوية جاهزة للأجناس:

وهي من إنتاج شركة Himedia وتشمل مجموعة من الاختبارات الكيمياحيوية الخاصة بكل نوع ومنها مساطر خاصة بالعنقوديات HiStaph™ Identification kit، بالإضافة إلى مساطر خاصة بالعقديات HiStrep™ Identification kit، وكذلك مساطر خاصة بالامعائيات Hi ™ Enterobacteriaceae Identification kit، وتم استخدامها بعد عزل المستعمرات على آجار الصويا التربتيكي، ثم اخذ مستعمرة منفردة وزرعها في 5 مل من مرق خلاصة القلب والدماغ وتحضينها عند درجة حرارة 35-37 °م لمدة 4-6 ساعات أو أكثر حسب حاجة الجرثوم، حتي تبلغ العكارة أكثر من أو تساوي D 0,10 على 620 نانومتر أو نصف وحدة قياس ماكفرلاند، كما يمكن اخذ من 1-3 مستعمرات معزولة بشكل جيد وعمل معلق متجانس في 3 مل من محلول ملحي فزيولوجي حتى تبلغ العكارة أكثر من أو تساوي D 0,10 على 620 نانومتر أو نصف وحدة قياس ماكفرلاند، ويتم تحضين المساطر عند درجة حرارة 35-37 °م لمدة 18-24 ساعة و ذلك حسب تعليمات الشركة ثم تقرأ النتيجة حسب مخطط تفسير النتيجة المرفق مع المساطر.



صورة رقم (3) عتائد الاختبارات الكيمياحيوية التجارية.

6.1.3 اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:

تم إجراء اختبار الحساسية لـ14 نوعاً من الصادات الحيوية الشائعة الاستخدام في الحقل، و هي كالتالي : البنسلين، والامبيسلين، واموكسيسلين، والاوكسي تتراسكلين، والدوكسي سيكلين، والانروفلوكساسين، والسيبروفلوكساسين، والتايلوزين، والنيوميسين، والجنتاميسين، والكاناميسين، والاريثروميسين، والكلورام فينيكول، والكولستين، قسم منها من شركة Bioanalyse والقسم الآخر من شركة Arcomex.

2.3 طرائق العمل:

1.2.3 معاملة العينات:

بعد أخذ العينات بشكل عقيم تم وضعها في مرق مغذي معقم مضاف له الغلوكوز ومصل دم معقم بالنسب التالية (1%،10%) أومرق الثيوغليكولات، ونقلها إلى المختبر وحضنها لمدة يومين على الأقل ومن ثم زراعتها على الأوساط الصلبة. [39+13+6]

2.2.3 العزل:

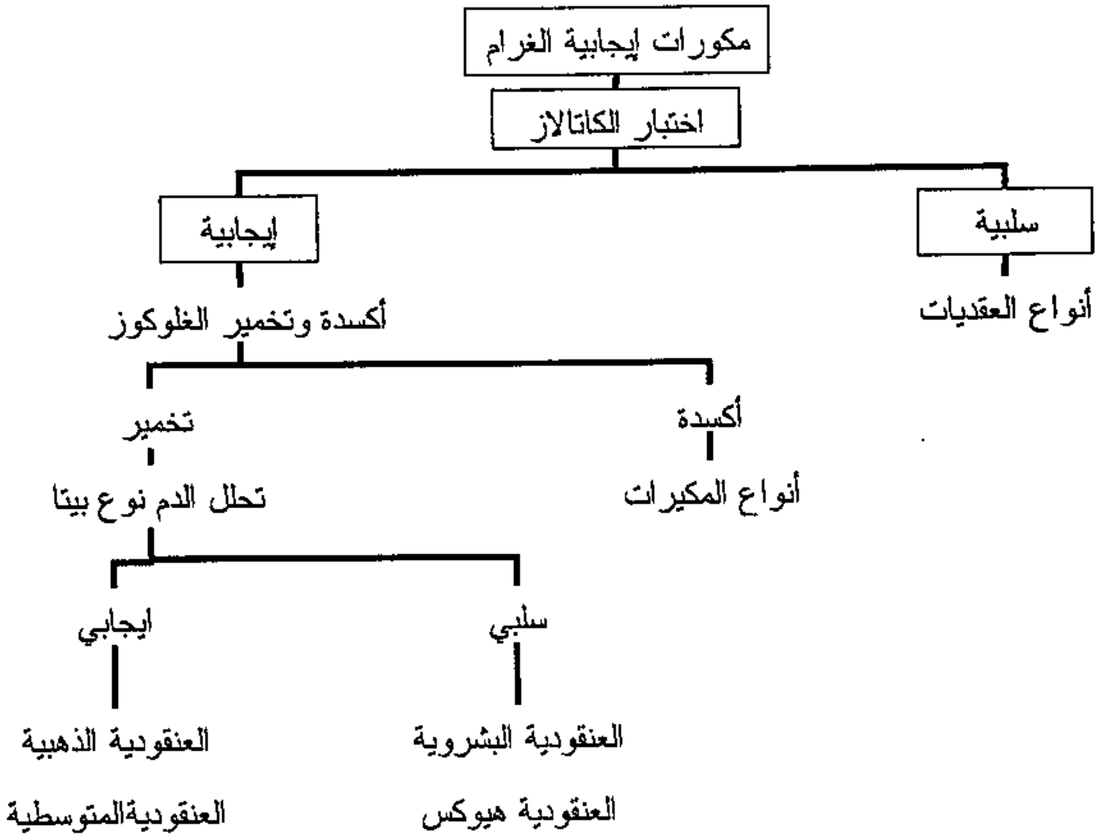
زرعتُ كل عينة على نوعين من الأوساط، طبق من وسط آجار الماكونكي MacConkey Agar Medium، وطبقين من وسط أساس الآجار المدمى Blood Agar base Medium المضاف له دم الأغنام بنسبة 5-10%، حيث حُضنت الأطباق المزروعة في ظروف هوائية ولاهوائية، عند درجة حرارة 37° م لمدة 2-4 أيام، ثم تم عزل وتنقية

المستعمرات على وسط آجار الصويا المهضوم Tryptic Soy Agar والآجار المدمى Blood Agar base Medium.[39+13+6]

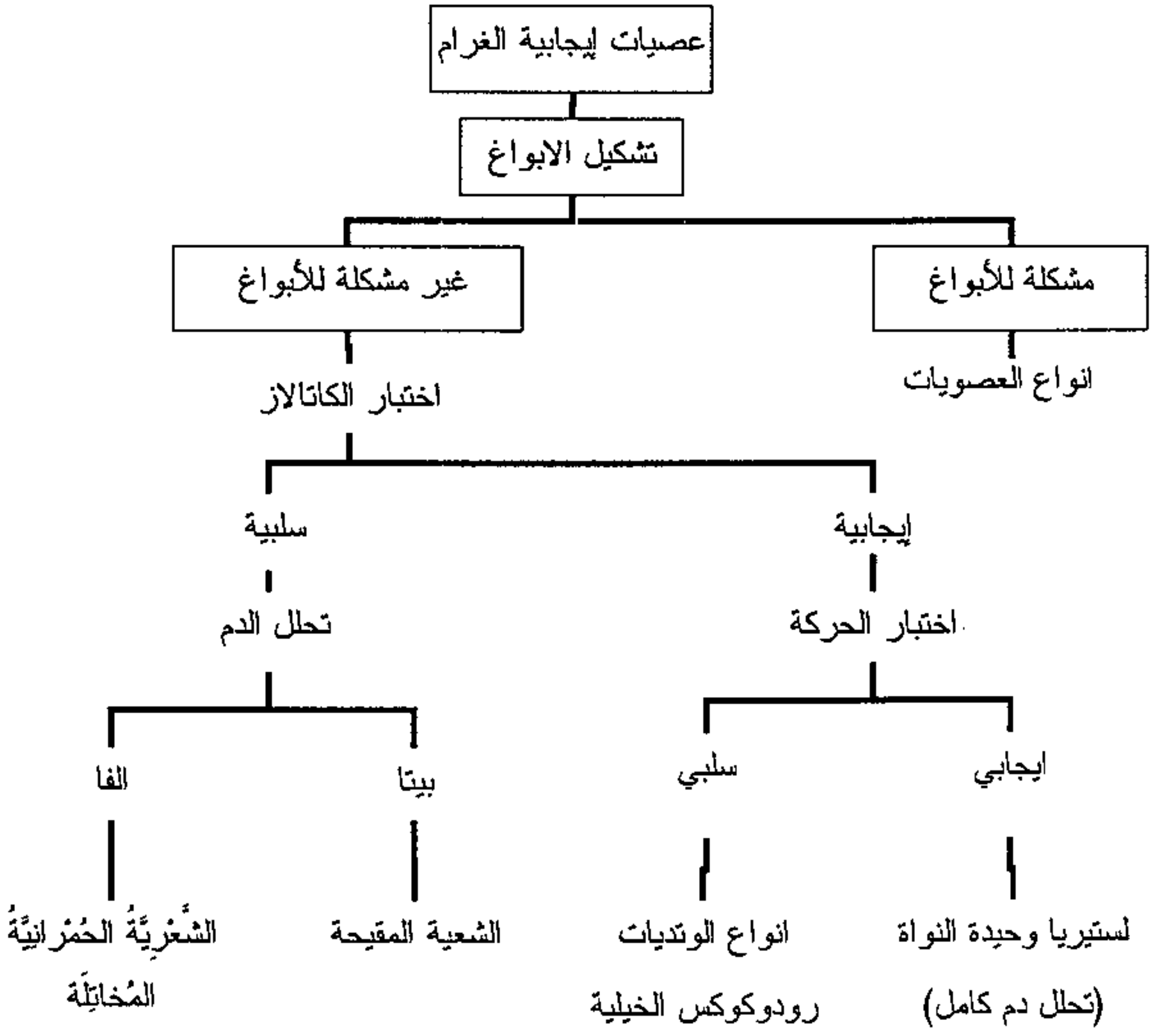
3.2.3 التصنيف:

1.3.2.3 التصنيف الأولي:

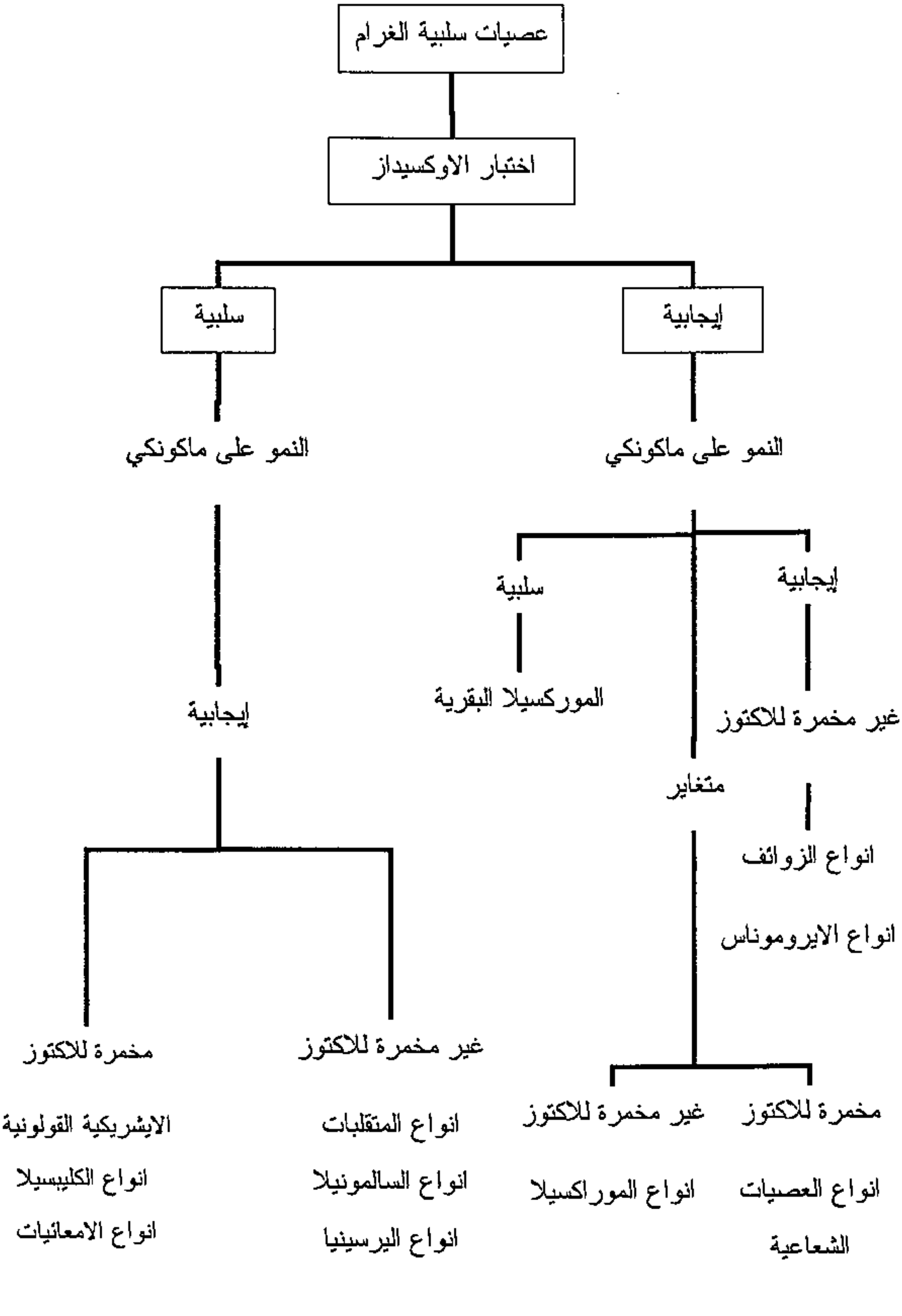
بعد توصيف المستعمرات وصباغتها بصبغة غرام واختبار ماءات البوتاسيوم، قُسمت الجراثيم إلى مكورات إيجابية الغرام G+ve وعصيات إيجابية الغرام G+ve وعصيات سلبية الغرام G-ve، وصُنفت المكورات إيجابية الغرام إلى أجناسها باستخدام اختبار الكاتالاز واختبار تخمير وأكسدة الغلوكوز، ونوع التحلل الدموي على وسط الآجار المدمى، مع زراعتها على الأوساط التمييزية: وسط آجار المانيتول المالح Mannitol Salt Agar (آجار شابمان ستون)(Chapman Stone Agar) للعنقوديات، ووسط باركر (وسط أساس الآجار المدمى بالأزيد وبنفسجية الكريستال)(Crystal Violet-Azide Blood Agar) للعقديات،[29+20+16] أما العصيات إيجابية الغرام فتم تصنيفها الأولي باختبار الكاتالاز واختبار الحركة على الآجار نصف الصلب Semi solid medium وتشكيل الابواغ ونوع التحلل الدموي على الآجار الدموي، وبالنسبة للعصيات السلبية الغرام فتم تصنيفها باختبار الاوكسيداز والنمو على وسط الماكونكي واختبار تخمير سكر اللاكتوز وذلك حسب المخططات التالية: [14]



مخطط رقم (1) مخطط التصنيف الأولي للمكورات الإيجابية لصبغة غرام. [14]



مخطط رقم (2) مخطط التصنيف الأولي للعصيات الإيجابية لصبغة غرام.[14]



مخطط رقم (3) مخطط التصنيف الأولي للعصيات السلبية لصبغة غرام. [14]

2.3.2.3 التصنيف بالاختبارات الكيمياحيوية:

اُستخدمت عتائد تجارية جاهزة تشمل مجموعة من الاختبارات الكيمياحيوية الخاصة بكل من العنقوديات والعقديات وكذلك الأمْعائِيّات، بعد عزل مستعمراتها على آجار الصويا المهضوم، حيث تم تنشيطها بأخذ مستعمرة منفردة وزراعتها في مرق خلاصة القلب والدماغ، والذي حضن لمدة 12 إلى 24 ساعة ثم زراعتها في العتائد حسب تعليمات الشركة المصنعة، ثم حضنت أيضاً من 12 إلى 24 ساعة، وتم قراءة النتيجة حسب الجدول المرفق بالعتائد كما هو موضح بالجدول رقم (4،3،2)، بالإضافة إلى اختبار المختراز بالنسبة للعنقوديات. [29+20+14]

جدول رقم (2) تصنيف العنقوديات وفق الاختبارات الكيمياحيوية وحسب العتيدة التجارية Histaph™ Identification kit

Mal	Tre	Raf	Ara	Lac	Suc	Man	Arg.util	Urease	ONPG	Alkal.phos	VP	نوع العنقوديات
+	+	−	−	+	+	+	+w	+w	−	+	+	العنقودية الذهبية
+	−	−	−	v	+	−	+w	+	−	+	+	ع. البشروية
+	+	−	−	v	+	v	+	−	−	−	v	ع. المحللة للدم
v	+	+	v	v	+	+	−	−	−	+w	−	ع. انتيوس

VP= فوجس بروسكاور ، Alkal. Phos = الفوسفاتيز القلوي، ONPG= للكشف عن فعالية بيتا جلاكتوزيداز ،

Urease = انظيم اليورياز، Arg.util= استعمال الأرجنين، Man= مانيتول، Mal= مالتوز،

Suc= سكروز ،Lac= لاكتوز ، Ara= ارابينوز ، Raf = رافينوز ،Tre = تريهالوز

جدول رقم (3) تصنيف العقديات وفق الاختبارات الكيمياحيوية وحسب العتيدة التجارية Histrep™ Identification kit

Raf	Man	Sor	Suc	Ara	Rib	Glu	Arg.util	ONPG	PYR	Esc.hyd	VP	نوع العقديات
−	−	−	+	−	−	+	+	−	+	(−)	−	العقدية المقيحة
(−)	+	+	+	−	+	+	+	−	−	+	−	عق. يوبيريز
−	v	d	+	v	−	+	−	(−)	−	+	−	عق. البقرية

VP= فوجس برسكاور، Esc.hyd = اماهة الاسكولين، PYR= فاعلية أنزيم PYR ،

ONPG= للكشف عن فعالية بيتا جلاكتوزيداز، Arg.util= استعمال الأرجنين، Glu= غلوكوز،

Rib= ريبوز، Ara= ارابينوز، Suc= سكروز، Sor= سوربيتول،

Man= مانيتول، Raf= رافينوز.

جدول رقم (4) تصنيف الجراثيم سلبية الغرام وفق الاختبارات الكيمياحيوية في العتيدة التجارية

Hi ™ Enterobacteriaceae Identification kit

نوع الجرثوم	Lys.util	Orn.util	Urease	Motility	Citrate	Indole	H_2S	Malonate	Phe.Dea
أنواع الأمْعائيّة	(+)	(+)	v	(+)	(+)	−	−	v	(-)
الإشْريكيّة القولونيّة	v	v	−	(+)	−	+	−	−	−
أنواع الكلَيْسيلَة	+	−	+	−	+	(−)	−	+	−

Lys.util= استخدام الليسين،Orn.util = استخدام الأورنيثين، Phe.Dea = نزع الحمض الأميني الفينيل الانين

أما بالنسبة للوتديات والشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes* فتم استكمال تصنيفها باستخدام الاختبارات التالية (تخمير السكاكر، إماهة الهلام، إرجاع النترات، حلمهة البولة، التفاعل على منبت اللبن بعباد الشمس، تحليل المصل المخثر للوفلر) كما هو موضح بالجدول رقم (5). [6]

جدول رقم (5) تصنيف الوتديات والشعية المقيحة بالإختبارات الكيمياحيوية .

نوع الجرثوم	تحلل الدم من النوع بيتا	الكاتالاز	منبت اللبن بدوار الشمس	تحليل المصل المخثر للوفلر	إماهة الهلام	إرجاع النترات	حلمهة اليوريا	اكسدة الغلوكوز	اكسدة المالتوز	اكسدة السكروز	اكسدة اللاكتوز
الشعية المقيحة	+	−	حمضي – خثرة – هضم	+	+	−	−	+	+	v	+
الوتدية السلبية الكاذبة	+	+	−	−	−	v	−	+	+	−	+
الوتدية المقرحة	+	+	−	−	+	+	+	−	+	−	−
الوتدية البقرية	−	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−

4.2.3 الحساسية للمضادات الحيوية:

اجري الاختبار على وسط مولر-هنتون Mueller- Hinton Agar المجهز من شركة Himedia، وذلك بزرع مستعمرات جرثومية طازجة في شوربة مغذية أو تشكيل معلّق جرثومي في محلول ملحي معقم عكارته تقارب 0.5 عكارة أنبوب ماكفرلاند رقم (1) ، ثم تم نشر المعلّق الجرثومي بواسطة ناشرة زجاجية معقمة على سطح الآجار، وتركت الأطباق لمدة15 دقيقة لتجف ثم وضعت أقراص الصادات المدروسة وحضّنت الأطباق لمدة 24 ساعة بالدرجة 37°م. [29+14]

بعد ذلك تم قياس قطر مناطق التثبيط وقسمت العزولات إلى ثلاث فئات هي الحساسة Sensitive، ومتوسطة الحساسية Intermediate، والمقاومة Resistance، كما هو موضح بالجدول رقم(6).

الجدول رقم (6) جدول الحساسية للمضادات الحيوية بقياس القطر.

حساسة ملم أو أكثر	متوسطة المقاومة	مقاومة ملم أو أقل	تركيز القرص mcg/	رمز المضاد الحيوي	اسم المضاد الحيوي
31	30-23	22	25	AMX	Amoxicillin
31	30-23	22	10	AM	Ampicillin
29	28-21	20	10	P	Penicillin
21	20-16	15	5	ENR	Enrofloxacin
21	20-16	15	5	CIP	Ciprofloxacin
19	18-15	14	30	T	Oxytetracycline
16	15-13	12	30	DOX	Doxicyclin
18	17-14	13	30	k	kanamycin
15	14-13	12	10	GN	Gentamicin
17	16-13	12	30	N	Neomycin
23	22-14	13	15	E	Erythromycin
11	10-9	8	10	COL	Colistin sulphate
18	17-13	12	30	C	Chloramphenicol
23	22-14	13	30	TY	Tylosin

الفصل الرابع

4. النتائج

Results

1.4 المشاهدات الحقلية:

إن قطعان الأغنام التي شملتها هذه الدراسة هي قطعان سرحيه تتغذى على بقايا المحاصيل الزراعية، بالإضافة إلى النباتات الرعوية النامية على ضفاف نهر الفرات والبادية القريبة منها، وكذلك الأعلاف في حال عدم توفر المرعى، وغالباً ما تحوي هذه القطعان على الماعز، التي قد تصل نسبتها إلى 20 % من إجمالي العدد الكلي لقطيع الأغنام، وقد تم ملاحظة خراجات في العقد اللمفية السطحية مثل النكفية عند بعضها كما هو موضح في الصور رقم (4،5).



صورة رقم(4) خراج الغدة النكفية.



صورة رقم(5) خراج الغدة النكفية.

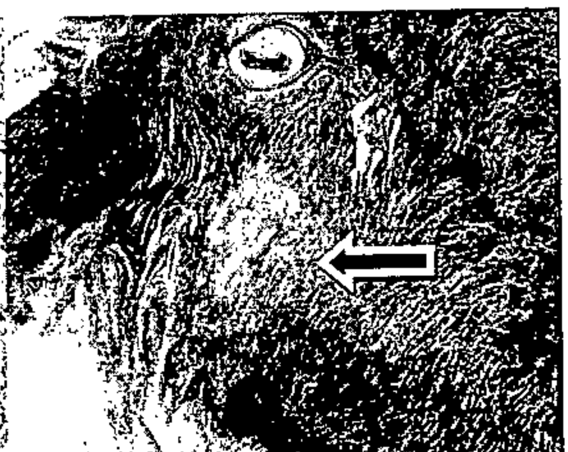
2.4 الفحص السريري للقطعان المصابة:

أُجريت هذه الدراسة على 127 قطيع من أغنام العواس في محافظة ديرالزور في المنطقة الشرقية من سوريا، حيث تم جمع 300 عينة من 249 حيوان مصاب في الفترة الواقعة بين 2009/2/1م حتى 2010/6/30م، وتم زراعة العينات في مخبر الجراثيم بقسم الأحياء الدقيقة في كلية الطب البيطري في حماه، وكذلك مخبر البحوث العلمية (الفاو) التابع للكلية، بالإضافة إلى مخبر من القطاع الخاص في محافظة دير الزور، وتراوح عدد الأغنام في القطيع الواحد

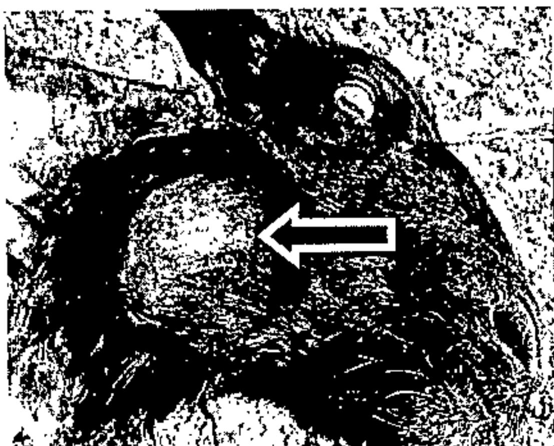
بين 25 إلى 750 رأساً، صُنفت العينات حسب العمر (ص< سنة ، ك> سنة)، والجنس (♀،♂)، وكان أكبر عدد للخراجات السطحية في الحيوان المصاب الواحد 4 خراجات وأقل عدد خراج واحد وبمتوسط (1.2) خراج للأغنام المصابة في جميع القطعان، ويوضح الجدول رقم (7) نسبة الأغنام المصابة بالخراجات السطحية إلى عدد الأغنام الكلي في القطيع الواحد.

الجدول رقم (7): نسبة الخراجات والأغنام المصابة إلى عدد أغنام كل قطيع على حدة في المنطقة الشرقية من سوريا.

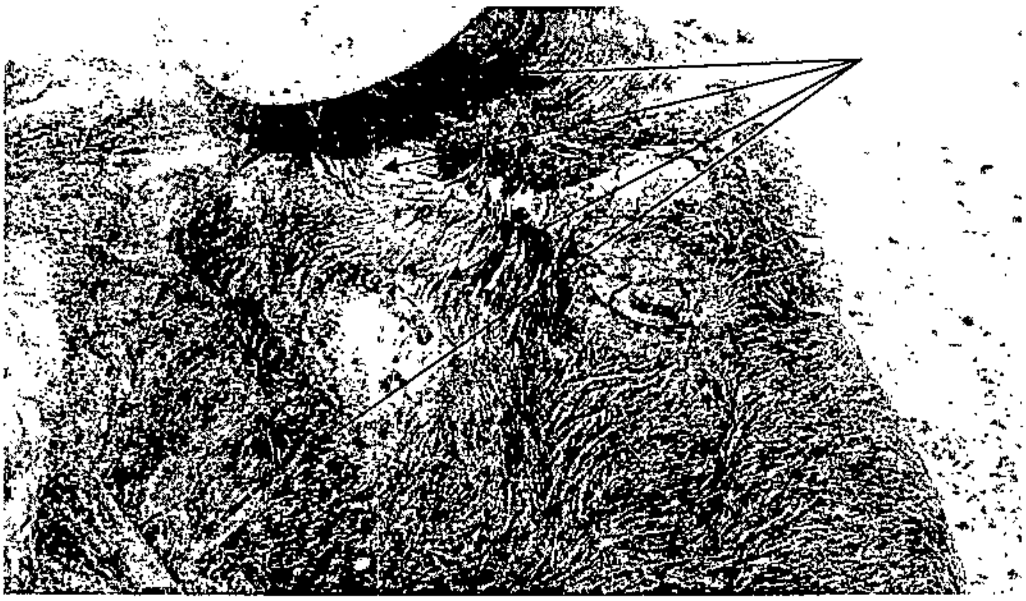
	نسبة الأغنام المصابة في القطيع الواحد	نسبة الخراجات في القطيع الواحد
المتوسط	%1.95	%2.57
أعلى نسبة	*%8.7	*%12.17
أدنى نسبة	%0.18	%0.18



صورة رقم(6) خراج في الوجه تحت العين.



صورة رقم(7) خراج جانبي في الفك السفلي.



صورة رقم(8) أربع خراجات في الرأس عند كبش بعد كسر قرنه نتيجة العراك.

ويوضح الجدول رقم (8) عدد الأغنام المصابة بالنسبة إلى مجموع الأغنام الكلي في جميع قطعان الدراسة.

الجدول رقم (8): عدد ونسبة كل من الخراجات والأغنام المصابة إلى مجموع الأغنام في كل قطعان الدراسة في المنطقة الشرقية من سوريا.

النوع	عدد المصابة	عدد الخراجات	العدد الكلي للأغنام	نسبة الأغنام المصابة	نسبة الخراجات
♂ك	27	33	1983	%1.36	%1.66
♂ص	4	10	7450	%0.05	%0.13
♀ك	215	250	16923	%1.27	%1.48
♀ص	3	7	7512	%0.04	%0.09
المجموع	249	300	33868	%0.74	%0.89

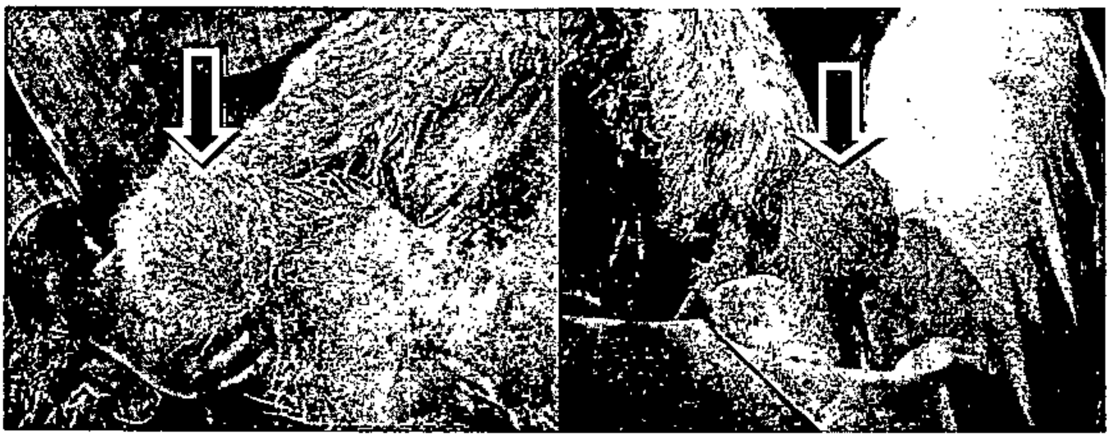
وقد لوحظت أعلى نسبة للخراجات عند الأغنام العواس في منطقة الرأس والرقبة والتي بلغ عددها 252 خراج (بنسبة 84%) من مجموع الخراجات الكلي، تلتها منطقة القص والأكتاف حيث بلغ عددها 27 خراج (بنسبة 9%)، ثم الجزء الخلفي من الخاصرة وحتى الإلية والتي

بلغ عدد الخراجات فيها 21 خراج (بنسبة 7%)، ويوضح الجدول رقم (9) أماكن توزع الخراجات التي أخذت منها العينات على جسم الحيوان بشكل مفصل.

الجدول رقم (9): أماكن توزع الخراجات التي أخذت منها العينات بشكل مفصل.

موقع الخراجات	عدد	النسبة العامة	النسبة المئوية لكل منطقة على حدة	المجموع	النسبة المئوية	المنطقة
وجهي (أمام العين)	37	%12.3	%14.7	252	%84	الرأس والرقبة
فكي	107	%35.7	%42.5			
حول الأذن	65	%21.7	%25.8			
الثلث الأول من العنق (حنجري عنقي)	43	%14.3	%17.1			
القص	15	%5.0	%55.6	27	%9	القص و الكتف
الكتف	12	%4.0	%44.4			
بين الفخذين (الضرع، الخصية)	14	%4.7	%66.7	21	%7	الجزء الخلفي
القوائم (بين الظلفين)	7	%2.3	%33.3			
المجموع الكلي	300	%100		300	%100	

وقد توزعت الخراجات عند الذكور الكبيرة (♂ك) كالتالي: في منطقة الرأس والرقبة (25 خراج)، والغدة بين الظلفين (5 خراجات) كما في الصورة رقم(9)، وكيس الصفن (3 خراجات) كما في الصورة رقم(10).



صورة رقم(9) خراج في الغدة بين الظلفين. الصور رقم(10)خراج في كيس الصفن.

أما عند الإناث الكبيرة (♀ ك) فقد كان عدد الخراجات في منطقة الرأس والرقبة (211 خراج)، وفي منطقة القص والأكتاف (27 خراج)، وبين الظلفين (2 خراج)، وعلى الضرع (11خراج) والمترافقة مع التهاب حاد بالضرع كما في الصور رقم (11،12).



صورة رقم(11)خراج تحت جلد الضرع. صورة رقم(12)خراج مفتوح تحت جلد الضرع.

أما الذكور الصغيرة (♂ ص) فكان عدد الخراجات في الرأس 9 خراجات وفي الخصية خراج واحد، وأما في الإناث الصغيرة (♀ ص) فكانت الخراجات في منطقة الرأس (7 خراجات)، وتوضح الصورة رقم(13،14) إصابة ذكر صغير بعمر 2,5 شهر بثلاث خراجات في منطقة الرأس.



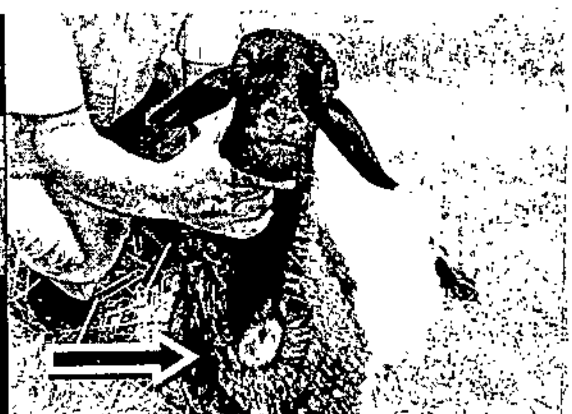
الصورة رقم(13)خراج بالفك السفلي وآخر خلف العين. الصورة رقم(14)خراج أمام العين.

ويبين الجدول رقم (10) متوسط أقطار الخراجات حسب أماكن توزعها على جسم الحيوان.

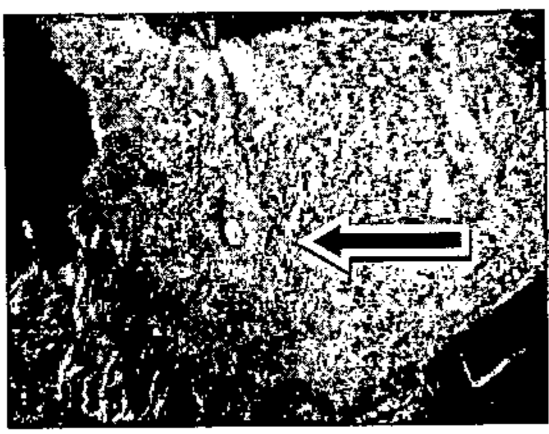
جدول رقم (10): تقدير حجم الخراج بحساب القطر.

موقع الخراج	متوسط قطر الخراج / سم	مدى قطر الخراج / سم
الرأس و الثلث الأعلى من الرقبة	3	20-2
القص و الكتف*	7	20-4
بين الفخذين و بين الظلفين	3,7	10-3

*من الصعب تمييز وجود خراجات الكتف والقص بالفحص السريري للأغنام العواس وذلك بسبب الصوف الكثيف، حيث تلاحظ أثناء وبعد الجز أو في حال وجود إعاقة حركية أو كبر حجم الخراج، كما في الصورة رقم(15،16،17،18).

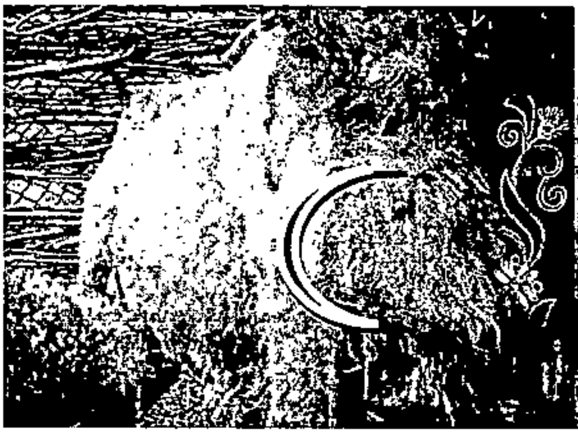


الصورة رقم(15)خراج في القص.



الصورة رقم(16)خراج في الكتف.





صورة رقم(17) خراج كبير تحت الأذن.   صورة رقم(18) خراج كبير في القص.

كما يوضح الجدول رقم(11) صفة القيح ولونه في الخراجات حسب العوامل الجرثومية المرجح عزلها من القيح، وذلك حسب المراجع والمشاهدات الحقلية، علما أن هذه الصفات تقريبية وليست حتمية، كما توضحها الصور رقم(19).

الجدول رقم (11): صفات القيح ولونه حسب العامل المسبب

العامل المسبب	صفة القيح ولونه
الشعية المقيحة	غالبا رائق بلون بني مخضر و رائحة كريهة
الوتدية السلية الكاذبة	غالبا قوام معجون الأسنان كريمي أو اصفر مائل للخضرة
العنقوديات	غالبا ما يكون كريمي مصفر
العقديات	

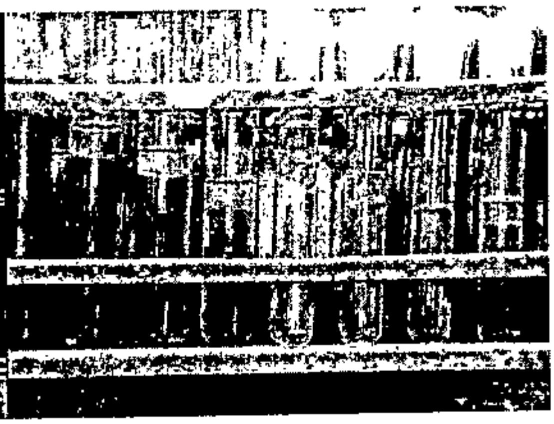


الصور رقم(19) توضح ألوان القيح المؤخوذ من الخراجات المغلقة.

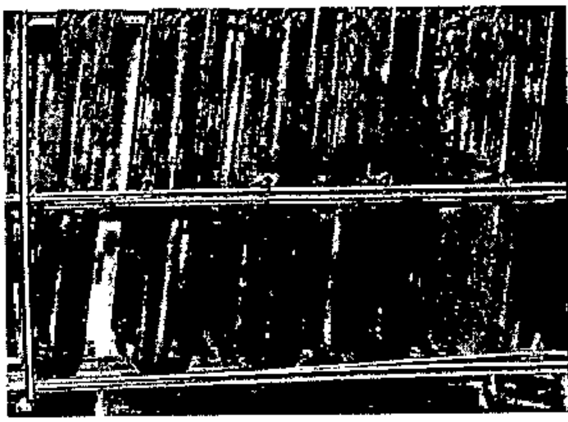
3.4 نتائج العزل الجرثومي:

1.3.4 نتائج العزل الجرثومي حسب أنواع الجراثيم المعزولة:

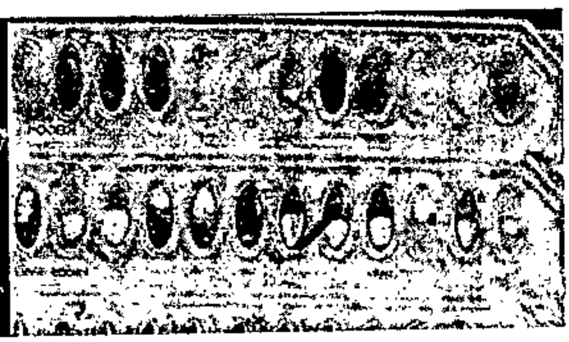
بعد تنقية المستعمرات على آجار الصويا المهضوم والآجار الدموي، تم اختبارها بماءات البوتاسيوم وصباغتها بصبغة غرام للتعرف عليها، ثم أجريت عليها الاختبارات الكيمياحيوية لتصنيفها.



الصورة رقم(20) اختبار تخمير السكاكر.



الصورة رقم(21) اختبار أكسدة السكاكر.



الصورة رقم(22)عتائد الاختبارات الكيمياحيوية.

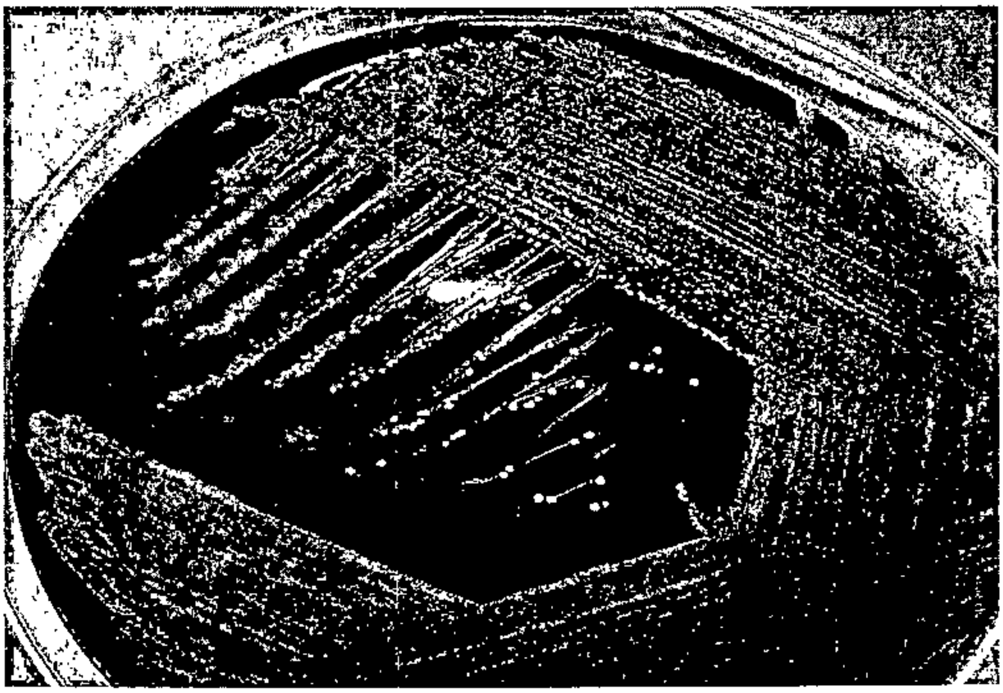


الصورة رقم(23) منبت الآجار نصف الصلب.

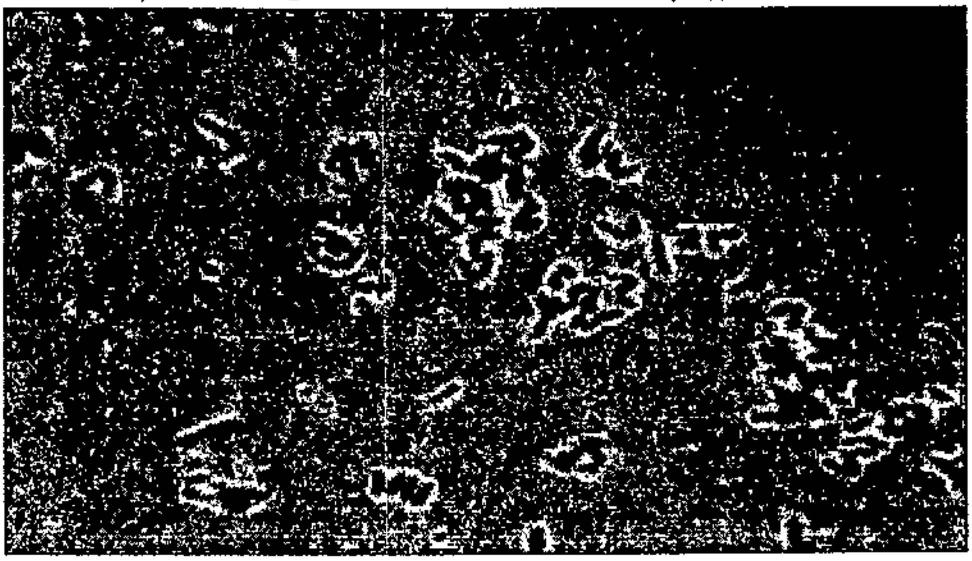


الصورة رقم(24) اختبار الكاتالاز.

أظهرت نتائج العزل الجرثومي عزل الوتدية السلية الكاذبة بنسبة (21.67%) من إجمالي عدد العينات، حيث أظهرت عزولاتها (65عزولة) على الآجار المدمم مستعمرات بيضاء إلى رمادية شمعية صورة رقم(25)، كما تتكسر تلك المستعمرات محدثة طقطقه عند تعريضها للهب، والتي تظهر تحت المجهر على شكل عصيات ايجابية الغرام تنتظم بأشكال عشوائية مثل الأحرف الصينية وأحياناً كأوتاد السياج صورة رقم(26)، وكذلك الوتدية المقرحة *C.ulcerans* بنسبة(4%)، والوتدية البقرية بنسبة(6%).



الصورة رقم(25) مستعمرات الوتدية السلية الكاذبة على الآجار المدمم.

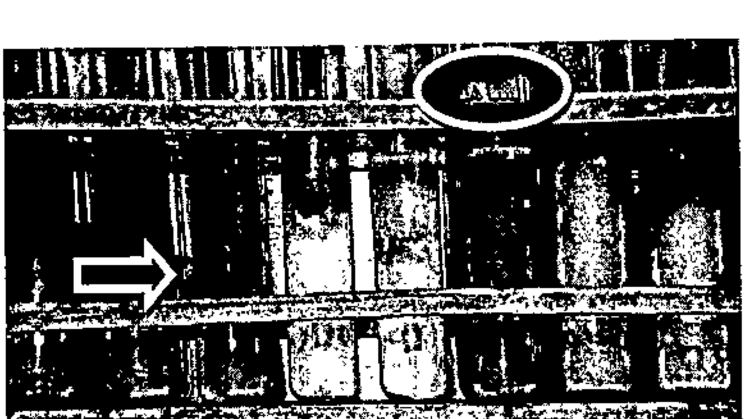


الصورة رقم(26) تظهر الشكل النموذجي للعصيات الوتدية السلية الكاذبة تحت المجهر.

كما تم عزل الشعية المقيحة وبنسبة (14%) من إجمالي عدد العينات، وأظهرت عزولاتها (42عزولة) مستعمرات بقياس 0.5 ملم، محاطة بمنطقة ذات تحلل دموي من النوع بيتا كما في الصورة رقم(27)، وتفاعلها حمضي على منبت اللبن بعباد الشمس نتيجة أكسدة سكر اللاكتوز، وتتشكل خثرة يتم هضمها فيما بعد صورة رقم(28)، كما أنها تحلل مصل الدم المخثر للوفلر صورة رقم(29)، كما أنها ايجابية لإماهة الهلام.



صورة رقم(27) مستعمرات الشعية المقيحة على الآجار المدمى والتحلل الدموي من النوع بيتا.

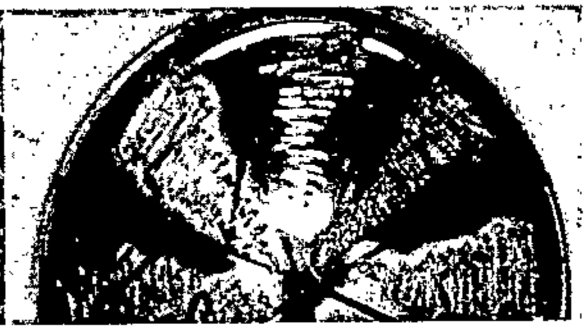


صورة رقم(28) منبت اللبن بعباد الشمس لاحظ هضم الخثرة.



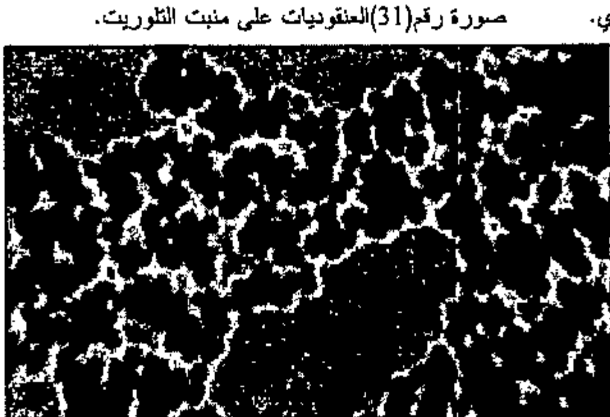
صورة رقم(29) مصل الدم المخثر للوفلر والمراحل المختلفة من التحلل.

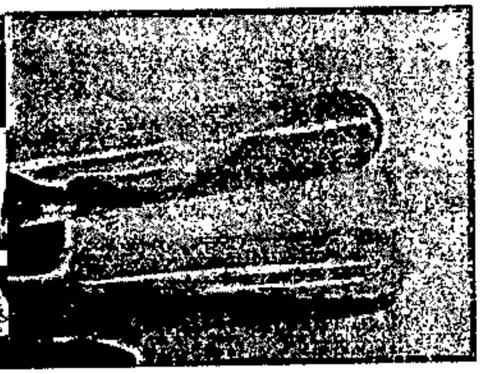
كما تم عزل العنقوديات الذهبية وبنسبة(9%)، وقد أظهرت عزولاتها (27عزولة) مستعمرات عموماً بلون أبيض إلى أبيض ضارب للصفرة مع سطح أملس لماع وقوام زوبدي المظهر محللة للدم صورة رقم(30)، وعلى الآجار المغذي المضاف له تلوريت البوتاسيوم فتقوم بأستقلاب التلوريت مما يعطي المستعمرات اللون الأسود صورة رقم(31)، وهي ايجابية لإماهة الهلام صورة رقم(32)، وايجابية للمخثراز صورة رقم(34،35)، وتنتظم تحت المجهر بشكل مفرد أو مجموعات صورة رقم(33).

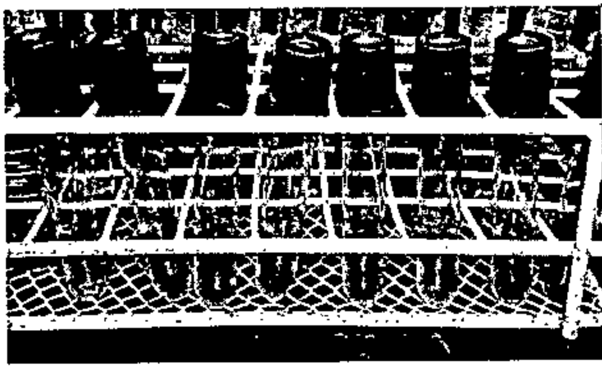

صورة رقم(30) العنقوديات المحللة للدم على الآجار الدموي.


صورة رقم(31)العنقوديات على منبت التلوريت.


صورة رقم(32) اختبار إماهة الهلام.


صورة رقم(33) العنقوديات تحت المجهر.



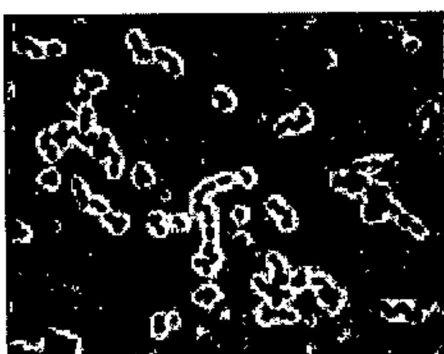


صورة رقم(34) اختبار المخثراز.   صورة رقم(35) اختبار المخثراز.

كما تم عزل العنقوديات البشروية وبنسبة (15%)، والتي كانت عزولاتها (45عزولة) غير محللة للدم وسلبية للمخثراز وإماهة الهلام، وكذلك العنقودية المحللة للدم بنسبة(9.33%)، والعنقودية انتيوس بنسبة(5.67%).

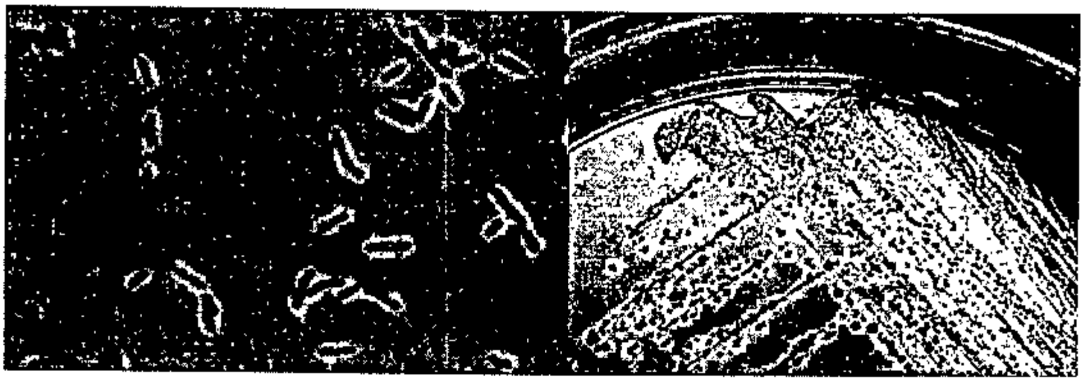
كما تم عزل العقدية المقيحة وبنسبة(10%)، والتي أظهرت عزولاتها (30عزولة) مستعمرات محللة للدم من النوع بيتا كما في الصورة رقم (36)، وكانت سلبية الكاتالاز، وانتظمت تحت المجهر على شكل منفرد أو سلاسل قصيرة كما في الصورة رقم(37)، بالإضافة إلى العقدية يوبيريز وبنسبة (2%)، والعقدية البقرية وبنسبة(3%).





الصورة رقم(36) مستعمرات العقديات.   الصورة رقم(37) العقديات.

كما تم عزل الجراثيم سلبية الغرام كما في الصورة رقم(38،39) والتي تم تصنيفها بعتائد الاختبارات الكيمياحيوية التجارية إلى الإشْريكيَّة القولونيَّة وبنسبة(3%)، وأنواع الكليْبسيلّة وبنسبة(2%)، وأنواع الزوائف وبنسبة(1%)، وأنواع الأمْعائيَّة وبنسبة(12%)من مجموع العزولات.



الصورة رقم(38)مستعمرات الجراثيم سلبة الغرام على ماكونكي. الصورة رقم(39) الجراثيم سلبية الغرام.

وكذلك أنواع المكيرات وبنسبة (16%)، وأنواع العَصَوِيات وبنسبة (22%) صورة رقم(40،41).



صورة رقم(40)مستعمرات لأنواع العَصَوِيات. صورة رقم(41) أنواع العَصَوِيات.

ويوضح الجدول رقم (12) أنواع الجراثيم المعزولة وعدد عزولاتها من الخراجات عند ذكور وإناث الأغنام الكبيرة و الصغيرة بشكل عام.

الجدول رقم (12) أنواع الجراثيم المعزولة وعدد عزولاتها من الخراجات بشكل عام في المنطقة الشرقية من سوريا.

نوع الحيوان	♂ك	♀ك	♂ ص	♀ص	المجموع الكلي	نسبة العزل	نسبة عزل الأجناس
نوع المسبب	العدد	العدد	العدد	العدد			
Arcanobacterium pyogenes الشعية المقيحة	10	32	-	-	42	%14	%14
الوتدية السلبية الكاذبة	6	46	8	5	65	%21.67	%32
و. المقرحة (*C.ulcerans*)	1	12	-	-	13	%4	
و. البقرية	3	15	-	-	18	%6	
العنقودية الذهبية	6	21	-	-	27	%9	%39
ع. البشروية	9	31	3	2	45	%15	
ع. المحللة للدم	6	20	2	-	28	%9.33	
ع. انتيوس	5	12	-	-	17	%5.67	
أنواع المكيرات	11	37	-	-	48	%16	%16
العقدية المقيحة	3	24	2	1	30	%10	%15
عق. يوبيريز	-	6	-	-	6	%2	
عق. البقرية	1	8	-	-	9	%3	
أنواع الأمْعائيّة	9	27	-	-	36	%12	%18
الإشْريكيّة القولونيّة	-	9	-	-	9	%3	
أنواع الكليْبسيلّة	-	6	-	-	6	%2	
أنواع الزوائِف	1	2	-	-	3	%1	
أنواع العَصَويات	15	51	-	-	66	%22	%22
المجموع	86	359	15	8	468		

2.3.4 نتائج العزل الجرثومي حسب أنواع العزولات الجرثومية:

عند الذكور الصغيرة (♂ ص) من أصل 10 خراجات كان خراجان عقيمان(أي لم يتم عزل أي نوع جرثومي بالطرق المستخدمة)، و4 خراجات عزل منها الوتدية السلية الكاذبة فقط، و4 خراجات عزل منها الوتدية السلية الكاذبة مع جراثيم أخرى والتي يوضحها الجدول رقم(13).

جدول رقم(13) أنواع العزولات من الذكور الصغيرة.

نوع العزولات	العدد	النسبة
الوتدية السلية الكاذبة	4	%40
و. السلية الكاذبة+ع. البشروية+ع. المحللة للدم	2	%20
و.السلية الكاذبة+ع. البشروية+العقدية المقيحة	1	%10
و. السلية الكاذبة+العقدية المقيحة	1	%10
لانمو	2	%20
المجموع	10	%100

وعند الإناث الصغيرة (♀ ص) فمن أصل 7 خراجات كان خراجان عقيمان ، و3 خراجات عزل منها الوتدية السلية الكاذبة، وخراجان عزل منهما الوتدية السلية الكاذبة مع جراثيم أخرى والتي يوضحها الجدول رقم(14).

جدول رقم(14) أنواع العزولات من الإناث الصغيرة.

نوع العزولات	العدد	النسبة
الوتدية السلية الكاذبة	3	%43
و. السلية الكاذبة+ع. البشروية	1	%14
و.السلية الكاذبة+ع. البشروية+العقدية المقيحة	1	%14
لانمو	2	%29
المجموع	7	%100

وعند الذكور الكبيرة (♂ ك) فمن أصل 33 خراج كانت 4 خراجات عقيمة، و3 خراجات عزل منها نوع واحد من الجراثيم، و26 خراج عزل منها 2-5 مسببات جرثومية من الخراج الواحد والتي يوضحها الجدول رقم(15).

جدول رقم(15) أنواع العزولات من ذكور الأغنام الكبيرة المختبرة في المنطقة الشرقية من سوريا.

نوع العزولات	عدد العزولات	نسبة العزل	نوع العزولات	عدد العزولات	نسبة العزل
ع.ذهبية+امعائيات+عصويات+ع.انتيوس	2	%3.03	الشعية المقيحة	1	6%.06
ع.ذهبية+الشعية المقيحة+ العصويات+ع.المحللة للدم	2	%6.06	و. السلية الكاذبة	2	%3.03
الشعية المقيحة+ع.بشروية+ العصويات+ المكيرات+الامعائيات	4	%3.03	شعية مقيحة+عصويات	1	%3.03
و. السلية الكاذبة+ع.البشروية+ المكيرات+ الامعائيات	3	%3.03	زائفة+عصويات	1	%3.03
الشعية المقيحة+و.البقرية+ العصويات	1	%9.09	و. بقرية+ العصويات	1	%3.03
ع.ذهبية+و. البقرية+ع.المحللة للدم	1	%3.03	عصويات+ع.انتيوس	1	%3.03
الشعية المقيحة+و. المقرحة+ العصويات	1	%12.12	ع.ذهبية+مكيرات	1	%3.03
و. السلية الكاذبة+ع.البشروية	1	%3.03	عق.مقيحة+ع.محللة للدم	1	%3.03
عق.مقيحة+مكيرات+ع.انتيوس	2	%3.03	ع.محللة للدم+مكيرات	1	%3.03
ع.بشروية+عق.بقرية	1	%6.06	لانمو	4	%12.12
عصويات+ع.محللة للدم	1	%6.06	عدد العينات	33	%100

أما الإناث الكبيرة (♀ ك) فمن أصل 250 خراج كان 62 خراج عقيم، و 34 عزل منها نوع واحد من المسببات الجرثومية، و154 عزل منها 2-5 مسببات جرثومية من الخراج الواحد، كما يوضحها الجدول رقم(16).

جدول رقم(16) أنواع العزولات من الإناث الكبيرة المختبرة في المنطقة الشرقية من سوريا.

نوع العزولات	عدد العزولات	نسبة العزل	نوع العزولات	عدد العزولات	نسبة العزل
زوائف+عصويات	2	0.80%	ع.ذهبية+مكيرات	5	2.00%
شعية مقيحة+مكيرات	1	0.40%	ع.ذهبية+و.بقرية	1	0.40%
و. سلية كاذبة+مكيرات	1	0.40%	ع.ذهبية+و.مقرحة	1	0.40%
و. سلية كاذبة+ع.انتيوس	2	0.80%	ع.ذهبية+عصويات	3	1.20%
و. سلية كاذبة+عق.مقيحة	1	0.40%	و.مقرحة+عق.مقيحة	3	1.20%
عق.مقيحة+عصويات	1	0.40%	و.مقرحة+امعائيات	3	1.20%
ع.بشروية+عصويات	2	0.80%	و.مقرحة+مكيرات	1	0.40%
مكيرات+عصويات	3	1.20%	و.مقرحة+عصويات	2	0.80%
عق.يوبيريز+الكليبسيلا	2	0.80%	و.بقرية+عق.يوبيريز	2	0.80%
ع.ذهبية+و. بقرية	2	0.80%	و.بقرية+ع.بشروية	4	1.60%
و.سلية كاذبة+عق.مقيحة	5	2.00%	و.بقرية+امعائيات	1	0.40%
شعية مقيحة+عصويات	8	3.20%	و.بقرية+مكيرات	2	0.80%
ع.ذهبية+و.سلية كاذبة	4	1.60%	ع.بشروية+عصويات	4	1.60%
شعية مقيحة+ع.محللة للدم	1	0.40%	ع.بشروية+امعائيات	4	1.60%
شعية مقيحة+عق.بقرية	3	1.20%	ع.بشروية+مكيرات	3	1.20%
شعية مقيحة+ع.بشروية	3	1.20%	ع.بشروية+عق.بقرية	2	0.80%
شعية مقيحة+ع.انتيوس	4	1.60%	ع.بشروية+كليبسيلا	1	0.40%
شعية مقيحة+عق.يوبيريز	2	0.80%	عق.مقيحة+الكليبسيلا	1	0.40%
و.سلية كاذبة+ع.بشروية	5	2.00%	عق.مقيحة+امعائيات	2	0.80%
و.سلية كاذبة+ع.محللة للدم	6	2.40%	عق.مقيحة+مكيرلت	3	1.20%

تابع جدول رقم(16) أنواع العزولات من الإناث الكبيرة.

نوع العزولات	عدد العزولات	نسبة العزل	نوع العزولات	عدد العزولات	نسبة العزل
و.سلبية كاذبة+عصويات	4	1.60%	ع.محللة للدم+عصويات	2	0.80%
و.سلبية كاذبة+الاشريكية القولونية	2	0.80%	عق.مقيحة+عصويات	3	1.20%
و.سلبية كاذبة+امعائيات	2	0.80%	عق.مقيحة+ع.انتيوس	2	0.80%
عق.بقرية+ع.محللة للدم	1	0.40%	ع.محللة للدم+امعائيات	4	1.60%
مكيرات+الاشريكية القولونية	4	1.60%	ع.محللة للدم+مكيرات	5	2.00%
ع.انتيوس+مكيرات	3	1.20%	امعائيات+عصويات	5	2.00%
الشعية المقيحة	8	3.20%	مكيرات	4	1.60%
و. السلبية الكاذبة	11	4.40%	عصويات	11	4.40%
الشعية المقيحة+الاشريكية القولونية+الامعائيات+عقدية بقرية+ع.محللة للدم				1	0.40%
و.سلبية كاذبة+ع.بشروية+عق.مقيحة+عصويات+ع.انتيوس				1	0.40%
و.سلبية كاذبة+ع.ذهبية+عق.مقيحة+كليبسيلا				2	0.80%
شعية مقيحة+اشريكية قولونية+امعائيات				1	0.40%
اشريكية قولونية+امعائيات+عق.بقرية				1	0.40%
و.مقرحة+ع.بشروية+المكيرات				2	0.80%
ع.ذهبية+و. بقرية+امعائيات				3	1.20%
لانمو				62	24.80%
عدد العينات				250	100%

تم اخذ العينات من الخراجات على الضرع و المترافقة بالتهاب الضرع الحاد.

جدول رقم(17) أنواع العزولات من خراجات الضرع عند الإناث الكبيرة.

نوع العزولات	عدد العزولات	نسبة العزل
الشعية المقيحة+الاشريكية القولونية+الامعائيات+عقدية بقرية+ع.محللة للدم	1	%9.09
و.سلبية كاذبة+ع.ذهبية+عق.مقيحة+كليبسيلا	2	%18.18
شعية مقيحة+اشريكية قولونية+امعائيات	1	%9.09
اشريكية قولونية+امعائيات+عق.بقرية	1	%9.09
ع.ذهبية+و. بقرية+امعائيات	3	%27.27
شعية مقيحة+عصويات	1	%9.09
ع.ذهبية+و. بقرية	2	%18.18
عدد العينات	11	%100

وترافقت خراجات الغدة بين الظلفين بانسداد الفتحة الخارجية للغدة.

جدول رقم(18) أنواع العزولات من خراج الغدة بين الظلفين عند الذكور والإناث.

نوع العزولات	عدد العزولات	نسبة العزل
امعائيات+عصويات	2	%28.57
عصويات+ع.انتيوس	1	%14.29
ع.محللة للدم+مكيرات	1	%14.29
لانمو	3	%42.85
عدد العينات	7	%100

كما يوضح الجدول رقم (19) أنواع العزولات من خراجات الكتف والقص عند الأغنام.

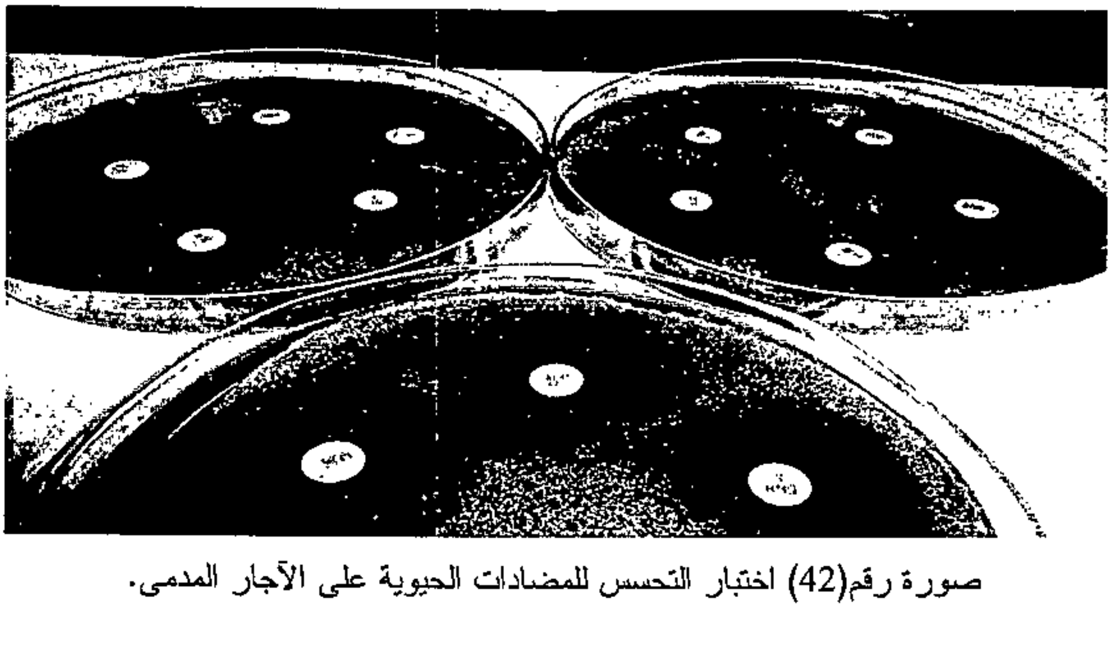
جدول رقم(19)أنواع العزولات من خراجات القص والكتف عند الإناث الكبيرة المختبرة في المنطقة الشرقية من سوريا.

نوع العزولات	عدد العزولات	نسبة العزل
و. السلبية الكاذبة	6	%22.22
و. سلبية كاذبة+ع.محللة للدم	2	%7.41
و. سلبية كاذبة+ع.بشروية	3	%11.11
و. سلبية كاذبة+عصويات	4	%14.81
و. سلبية كاذبة+ع.انتيوس	2	%7.41
و. سلبية كاذبة+عق.مقيحة	1	%3.70
و. سلبية كاذبة+امعائيات	2	%7.41
و. سلبية كاذبة+مكيرات	1	%3.70
و.سلية كاذبة+الاشريكية القولونية	2	%7.41
ع.بشروية+مكيرات	3	%11.11
لانمو	1	%3.70
المجموع	27	%100

4.4 نتائج اختبار التحسس للمضادات الحيوية:

أظهرت نتائج اختبار التحسس للمضادات الحيوية لعزولات الشعية المقيحة بأنها حساسة(S) للتايلوزين 55% والدوكسي سايكلين 52% والكلورامفينيكول 43%، ومتوسطة التحسس(I) للأمبسلين 74% والإنروفلوكساسين 74% والبنسلين 71% والأموكسيسلين 69% والأوكسي تتراسيكلين 60% والجنتاميسين 57% والأريثروميسين 55% والسيبروفلوكساسين 50% والنيومايسين 50% والكاناميسين 43%، ومقاومة (R) للكولستين 76% والسيبروفلوكساسين 50%.

كما أظهرت النتائج أن عزولات أنواع الوتديات بمجملها حساسة(S) للتايلوزين 83% والكلورامفنيكول 64% والدوكسي سايكلين 51%، ومتوسطة التحسس(I) للجنتاميسين 73% والإنروفلوكساسين 61% والكاناميسين 60% والأوكسي تتراسيكلين 57% والأموكسيسلين 50% والبنسلين 44% والسيبروفلوكساسين 43% والأمبسيلين 40% والكولستين 40%، ومقاومة (R) للنيوميسين 77% والإريثرومايسين 57%، كما يوضح الجدول رقم (15) نتائج اختبارات التحسس للمضادت الحيوية لعزولات الشعية المقيحة والوتديات بشكل مفصل.



صورة رقم(42) اختبار التحسس للمضادات الحيوية على الآجار المدمى.

جدول رقم(20) نتائج اختبار التحسس للمضادات الحيوية لعزولات الشعبة المقيحة والوتديات في المنطقة الشرقية من سوريا.

Ciprofloxacin			Enrofloxacin			Penicillin			Ampicillin			Amoxicillin			العدد	نوع العزولات المختبرة
CIP 5mcg			ENR 5mcg			P 10mcg			AM 10mcg			AMX 25mcg				
R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S		
21	21	0	0	31	11	9	30	3	6	31	5	4	29	9	42	الشعبة المقيحة
50%	50%	0%	0%	74%	26%	21%	71%	7%	14%	74%	12%	10%	69%	21%	42	الشعبة المقيحة
38	23	4	7	51	7	29	27	9	30	28	7	28	35	2	65	الوتدية السلية الكاذبة
58%	35%	6%	11%	78%	11%	45%	42%	14%	46%	43%	11%	43%	54%	3%	65	الوتدية السلية الكاذبة
1	9	3	3	4	6	6	7	0	5	6	2	4	6	3	13	الوتدية المقرحة
8%	69%	23%	23%	31%	46%	46%	54%	0%	38%	46%	15%	31%	46%	23%	13	الوتدية المقرحة
5	9	4	5	4	9	10	8	0	8	4	6	6	7	5	18	الوتدية البقرية
28%	50%	22%	28%	22%	50%	56%	44%	0%	44%	22%	33%	33%	39%	28%	18	الوتدية البقرية

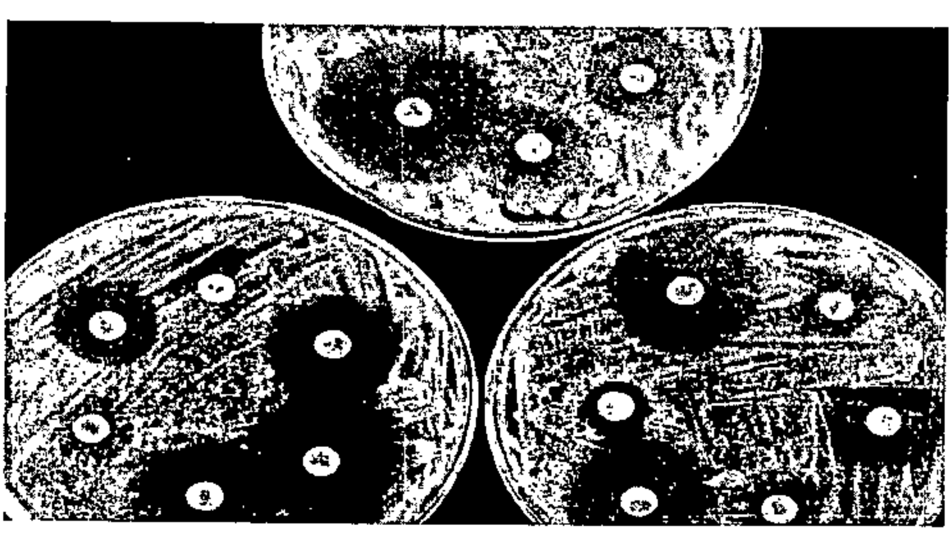
Neomycin			Gentamicin			kanamycin			Doxicyclin			Oxytetracycline			العدد	نوع العزولات المختبرة
N 30mcg			GN 10mcg			K 30mcg			DOX 30mcg			T 30mcg				
R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S		
13	21	8	0	24	18	13	18	11	5	15	22	6	25	11	42	الشعبة المقيحة
31%	50%	19%	0%	57%	43%	31%	43%	26%	12%	36%	52%	14%	60%	26%	42	الشعبة المقيحة
58	7	0	16	49	0	11	45	9	8	23	34	29	36	0	65	الوتدية السلية الكاذبة
89%	11%	0%	25%	75%	0%	17%	69%	14%	12%	35%	52%	45%	55%	0%	65	الوتدية السلية الكاذبة
7	5	1	3	8	2	6	5	2	1	5	7	5	8	0	13	الوتدية المقرحة
54%	38%	8%	23%	62%	15%	46%	38%	15%	8%	38%	54%	38%	62%	0%	13	الوتدية المقرحة
9	8	1	2	13	3	6	8	4	4	6	8	7	11	0	18	الوتدية البقرية
50%	44%	6%	11%	72%	17%	33%	44%	22%	22%	33%	44%	39%	61%	0%	18	الوتدية البقرية

Tylosin			Chloramphenicol			Colistin sulphate			Erythromycin			العدد	نوع العزولات المختبرة
TY 30mcg			C 30mcg			COL 10mcg			E 15mcg				
R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S		
0	19	23	7	17	18	32	10	0	3	23	16	42	الشعبة المقيحة
0%	45%	55%	17%	40%	43%	76%	24%	0%	7%	55%	38%	42	الشعبة المقيحة
0	5	60	0	21	44	33	29	3	39	26	0	65	الوتدية السلية الكاذبة
0%	8%	92%	0%	32%	68%	51%	45%	5%	60%	40%	0%	65	الوتدية السلية الكاذبة
0	4	9	0	6	7	6	4	3	5	7	1	13	الوتدية المقرحة
0%	31%	69%	0%	46%	54%	46%	31%	23%	38%	54%	8%	13	الوتدية المقرحة
0	7	11	0	8	10	7	5	6	11	7	0	18	الوتدية البقرية
0%	39%	61%	0%	44%	56%	39%	28%	33%	61%	39%	0%	18	الوتدية البقرية

أظهرت نتائج اختبار التحسس للمضادات الحيوية لعزولات العنقودية الذهبية بأنها حساسة(S) للإنروفلوكساسين 63% والكلورامفينيكول 56% والدوكسي سايكلين 52% والنيوميسين 48% والكولستين 44% والأوكسي تتراسيكلين 30%، ومتوسطة التحسس(I) للجنتاميسين 52% والسيبروفلوكساسين 48% والأموكسيسلين 44% والكاناميسين 41%، ومقاومة (R) للبنسلين 81% والأمبسيلين 70% والتايلوزين 56% والإريثرومايسين 52%.

كما أظهرت النتائج أن عزولات العنقودية البشروية حساسة(S) للإنروفلوكساسين 82% والسيبروفلوكساسين 47% والكلورامفينيكول 47%، ومتوسطة التحسس(I) للكاناميسين 73% والنيوميسين 64% والجنتاميسين 53% والتيلوزين 53% والإريثرومايسين 44%، ومقاومة (R) للبنسلين 93% والأمبسيلين 76% والكولستين 76% والأموكسيسلين 69% والأوكسي تتراسيكلين 62% والدوكسي سايكلين 56%.

أما عزولات العقديات فكانت حساسة(S) للأموكسيسلين 82% والأمبسيلين 80% والجنتاميسين 76% والبنسلين 73% والإنروفلوكساسين 62% والسيبروفلوكساسين 53% والدوكسي سايكلين 53% والكلورامفينيكول 53% والأوكسي تتراسيكلين 36%، ومتوسطة التحسس(I) للإريثرومايسين 31%، ومقاومة (R) للكولستين 73% والتيلوزين 67% والنيوميسين 60% والكاناميسين 58%،كما يوضح الجدول رقم (16) نتائج اختبارات التحسس للمضادت الحيوية لعزولات العنقوديات والعقديات بشكل مفصل.



صورة رقم(43) اختبار التحسس للمضادات الحيوية على آجار مولرهنتون.

جدول رقم(21) نتائج اختبار التحسس للمضادات الحيوية لعزولات العنقوديات والعقديات في المنطقة الشرقية من سوريا.

Ciprofloxacin CIP 5mcg			Enrofloxacin ENR 5mcg			Penicillin P 10mcg			Ampicillin AM 10mcg			Amoxicillin AMX 25mcg			العدد	نوع العزولات المختبرة
R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S		
10	13	4	1	9	17	22	4	1	19	7	1	13	12	2	27	العنقودية الذهبية
37%	48%	15%	4%	33%	63%	81%	15%	4%	70%	26%	4%	48%	44%	7%		
5	19	21	6	2	37	42	2	1	34	9	2	31	10	4	45	العنقودية البشروية
11%	42%	47%	13%	4%	82%	93%	4%	2%	76%	20%	4%	69%	22%	9%		
7	4	19	5	3	22	1	3	26	1	2	27	1	1	29	30	العقدية المقيحة
23%	13%	63%	17%	10%	73%	3%	10%	87%	3%	7%	90%	3%	3%	97%		
2	3	1	1	4	1	1	3	2	1	2	3	1	2	3	6	العقدية يوبيريز
33%	50%	17%	17%	67%	17%	17%	50%	33%	17%	33%	50%	17%	33%	50%		
1	4	4	1	3	5	1	3	5	1	2	6	2	2	5	9	العقدية البقرية
11%	44%	44%	11%	33%	56%	11%	33%	56%	11%	22%	67%	22%	22%	56%		

Neomycin N 30mcg			Gentamicin GN 10mcg			kanamycin K 30mcg			Doxicyclin DOX 30mcg			Oxytetracycline T 30mcg			العدد	نوع العزولات المختبرة
R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S		
5	9	13	6	14	7	7	11	6	7	6	14	13	6	8	27	العنقودية الذهبية
19%	33%	48%	22%	52%	26%	26%	41%	22%	26%	22%	52%	48%	22%	30%		
3	29	13	9	24	12	9	33	3	25	18	2	28	17	0	45	العنقودية البشروية
7%	64%	29%	20%	53%	27%	20%	73%	7%	56%	40%	4%	62%	38%	0%		
18	6	6	2	3	25	19	4	7	8	6	16	10	6	14	30	العقدية المقيحة
60%	20%	20%	7%	10%	83%	63%	13%	23%	27%	20%	53%	33%	20%	47%		
3	1	2	0	2	4	2	2	2	1	2	3	3	2	1	6	العقدية يوبيريز
50%	17%	33%	0%	33%	67%	33%	33%	33%	17%	33%	50%	50%	33%	17%		
6	2	1	1	3	5	5	3	1	2	2	5	4	4	1	9	العقدية البقرية
67%	22%	11%	11%	33%	56%	56%	33%	11%	22%	22%	56%	44%	44%	11%		

Tylosin TY 30mcg			Chloramphenicol C 30mcg			Colistin sulphate COL 10mcg			Erythromycin E 15mcg			العدد	نوع العزولات المختبرة
R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S		
15	5	7	7	5	15	10	5	12	14	9	4	27	العنقودية الذهبية
56%	19%	26%	26%	19%	56%	37%	19%	44%	52%	33%	15%		
14	24	7	14	10	21	34	9	2	18	20	7	45	العنقودية البشروية
31%	53%	16%	31%	22%	47%	76%	20%	4%	40%	44%	16%		
21	7	2	5	9	16	23	7	0	14	10	6	30	العقدية المقيحة
70%	23%	7%	17%	30%	53%	77%	23%	0%	47%	33%	20%		
4	2	0	0	3	3	4	2	0	3	2	1	6	العقدية يوبيريز
67%	33%	0%	0%	50%	50%	67%	33%	0%	50%	33%	17%		
5	3	1	1	3	5	6	3	0	5	2	2	9	العقدية البقرية
56%	33%	11%	11%	33%	56%	67%	33%	0%	56%	22%	22%		

كما أظهرت النتائج أن عزولات الجراثيم سلبية الغرام حساسة(S) للكولستين 89% والجنتاميسين 61% والنيوميسين 50%، ومتوسطة التحسس(I) للكاناميسين 67% والأموكسيسلين 61% والإنروفلوكساسين 50%، ومقاومة(R) للبنسلين 83% والأمبسيلين 67% والأوكسي تتراسيكلين 50%.

أما عزولات المكيرات فكانت حساسة(S) للأوكسي تتراسيكلين 69% والبنسلين 65% والإنروفلوكساسين 58% والجنتاميسين 50% والكولستين 42% والنيوميسين 40%، ومتوسطة التحسس(I) للأموكسيسلين 64% والكاناميسين 44%، ومقاومة (R) والأمبسيلين 60%، كما يوضح الجدول رقم (17) نتائج اختبارات التحسس للمضادت الحيوية لعزولات الجراثيم السلبية الغرام والمكيرات بشكل مفصل.

جدول رقم(22) نتائج لختبار التحسس للمضادات الحيوية لعزولات الجراثيم سلبية الغرام والمكيرات في المنطقة الشرقية من سوريا.

Oxytetracycline			Enrofloxacin			Penicillin			Ampicillin			Amoxicillin			العدد	نوع العزولات المختبرة
T 30mcg			ENR 5mcg			P 10mcg			AM 10mcg			AMX 25mcg				
R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S		
5	3	1	0	5	4	8	1	0	6	3	0	2	5	2	9	الإشريكية القولونية
56%	33%	11%	0%	56%	44%	89%	11%	0%	67%	33%	0%	22%	56%	22%		
2	3	1	1	2	3	4	2	0	4	2	0	1	5	0	6	أنواع الكليبسيلة
33%	50%	17%	17%	33%	50%	67%	33%	0%	67%	33%	0%	17%	83%	0%		
2	1	0	0	2	1	3	0	0	2	1	0	2	1	0	3	أنواع الزوائف
67%	33%	0%	0%	67%	33%	100%	0%	0%	67%	33%	0%	67%	33%	0%		
6	9	33	7	13	28	0	17	31	29	19	0	21	26	1	48	أنواع المكيرات
13%	19%	69%	15%	27%	58%	0%	35%	65%	60%	40%	0%	44%	54%	2%		

Colistin sulphate			Neomycin			Gentamicin			kanamycin			العدد	نوع العزولات المختبرة
COL 10mcg			N 30mcg			GN 10mcg			K 30mcg				
R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S		
0	0	9	1	1	7	0	2	7		6	3	9	الإشريكية القولونية
0%	0%	100%	11%	11%	78%	0%	22%	78%	0%	67%	33%		
0	1	5	1	5	0	0	2	4	0	3	3	6	أنواع الكليبسيلة
0%	17%	83%	17%	83%	0%	0%	33%	67%	0%	50%	50%		
0	1	2	0	1	2	1	2	0	0	3	0	3	أنواع الزوائف
0%	33%	67%	0%	33%	67%	33%	67%	0%	0%	100%	0%		
13	15	20	12	17	19	11	13	24	9	21	18	48	أنواع المكيرات
27%	31%	42%	25%	35%	40%	23%	27%	50%	19%	44%	38%		

5. المناقشة
Discussion

1.5 المشاهدات الحقلية و الفحص السريري للأغنام المصابة:

من الجدير بالذكر أن قطعان هذه الدراسة بطبيعتها أغنام تربية يستفيد المربي من حليبها وبيع مواليدها، بحيث لايبقي المربي على الأغنام الصغيرة لعمر أكثر من سنة، إلا إذا كان الغاية منها تجديد القطيع (أي استبعاد الإناث الكبيرة بالعمر واستبدالها بالإناث الأصغر سناً) أما إذا كان ذكراً فيجري له عملية خصي ليساعده في التحكم بالأغنام في المرعى.

بينت نتائج هذه الدراسة وهي الأولى من نوعها في سوريا، أن نسبة الإصابة بالخراجات في جميع هذه القطعان كانت 0.89 % ، ونسبة الأغنام المصابة بالخراجات السطحية 0.74 % من عدد الأغنام الكلي لقطعان الدراسة، بينما بلغت نسبة الأغنام الكبيرة المصابة بالخراجات السطحية 1.28%، وهي متباينة مع ما ذكره Asghar, *et al* 2009 وزملاؤه حيث أشار إلى أن النسبة في السلالات المحلية للأغنام في السعودية 2.58% ، أما في السودان فقد أشار الباحثان Babiker and El Sanousi 2004 إلى أن هذه نسبة انتشار الخراجات السطحية عند الأغنام في المراعى الطبيعية كانت 5.8 % ، وقد يعزى هذا إلى دور الغطاء الصوفي الذي يحمي الأغنام من الجروح والحشرات، وبالتالي تكون مساحة الجلد المعرضة للتلوث قليلة.[42]

لوحظ عند بعض القطعان ارتفاع نسبة الأغنام المصابة بالخراجات السطحية حيث بلغت النسبة 8.7 % ، وتعتبر هذه النسبة متباينة مع النسبة التي ذكرها Hassan, *et al* 2011 وزملاؤه عند أحد قطعان الأغنام السعودية والتي بلغت 20.7% ، ويمكن أن يعزى هذا الأمر إلى رعي تلك الأغنام في مناطق حاوية على نباتات شوكية وبقايا نباتية متخشبة بنسبة عالية، حيث تتسبب النباتات الشوكية بإحداث الجروح والخدوش ممهدةً لحدوث الخراجات والبثور في المناطق المكشوفة من الجلد وخاصة في منطقة الرأس والرقبة، وكذلك المنطقة بين الفخذين

على جلد الضرع وكيس الصفن، كما أن البقايا المتخشبة للنباتات تسبب جروحاً في التجويف الفموي مما يمهد لدخول الجراثيم والتي قد تسبب حدوث خراج في منطقة الجرح أو بالقرب منها، هذا وقد أُثبت وجود الوتدية السلية الكاذبة والشعية المقيحة بصورة متعايشة على الغشاء المخاطي للقناة الهضمية، كما أشارت بعض الدراسات. [14]

أظهرت النتائج أن هناك فروقات كبيرة في حدوث الخراجات بين الأغنام من حيث العمر، فعند الأغنام الكبيرة بلغت نسبة حدوث الخراجات 1.49 % بينما بلغت النسبة عند الأغنام الصغيرة 0.11 % ، إذ تزداد نسبة حدوث الخراجات مع زيادة العمر، حيث أن بعض هذه الإصابات المرضية أي الخراجات تعتبر من الإصابات المزمنة وبشكل خاص عندما تكون الإصابة ناجمة عن الوتدية السلية الكاذبة، كما أن الأغنام الصغيرة عند ولادتها تكون خالية من هذا المرض وتنتقل إليها المسببات المرضية عند وجود احتكاك شرطي مباشر مع الأغنام المصابة الأكبر سناً، ويساعد حصر الأغنام الصغيرة مع الكبيرة لأجل مكافحة الطفيليات الخارجية (التغطيس أو الرش) أو التلقيح أو الجز في انتقال العدوى إلى الأغنام السليمة والأصغر سنا إما بالاحتكاك المباشر في حال وجود خراجات سطحية، أو بالرذاذ في حال وجود خراجات رئوية، كما يمكن أن تنتقل المسببات الجرثومية إلى الحملان عن طريق الحليب في حال وجود التهاب بالضرع مترافق بتكون للخراجات على جلد الضرع أو بداخله، والذي عادةً ما يكون ناتج عن إصابة الضرع بالوتدية السلية الكاذبة أو الشعية المقيحة. [14]

أما من ناحية الجنس فلم تلاحظ فروق معنوية بين ذكور وإناث الأغنام، حيث كانت نسبة إصابة الذكور أعلى بقليل من الإناث، ولم يشير أي من الباحثين على وجود أي نوع من الفروقات من ناحية الجنس حيث اعتبروا أن تلوث بيئة الأغنام المحيطة بالمسببات الجرثومية للخراجات من أهم العوامل في إحداث هذا النوع من الإصابات. [14]

لوحظ أن أعلى نسبة للإصابة بالخراجات كانت في منطقة الرأس والرقبة حيث بلغت 84%، وهذه النسبة متقاربة مع ما ذكره بعض الباحثين حيث بلغت هذه النسبة عند Menzies and Muckle 1989 81.9 % ، أما Hassan, *et al* 2011 وزملاؤه فقد ذكروا أن الإصابة بالخراجات في منطقة الرأس والرقبة عند الأغنام السعودية بلغت 74 % ، أما

Asghar, *et al* 2009 وزملاؤه فقد أشار إلى أن نسبة الإصابة بالخراجات في منطقة الرأس كانت 56 % ، وقد أشارت بعض الدراسات بأن منطقة الرأس والرقبة هي الأكثر عرضة للإصابة بالخراجات السطحية، [42] حيث أن الجلد في هذه المنطقة مكشوف وغير مغطى بالصوف، وإن استخدام الأغنام لرؤوسها يجعلها عرضة للسحجات والجروح الناتجة إما عن التزاحم الشديد على المشارب والمعالف أو العراك، أو عن السياج المعدني والأسلاك الشائكة، أو عند حصر الأغنام للمعالجة أو التلقيح، كما أن تجميع الإناث للحلابة و الطريقة المتبعة في تثبيتها حيث تربط الأغنام الحلوب بطريقة الرؤوس المتقابلة بواسطة حبل ليفي خشن يساعد في إحداث السحجات في هذه المنطقة بالإضافة إلى تفجير الخراجات الناضجة وبالتالي تلويث النعجة التي بجانبها، كما أن للنباتات الشائكة أو الحشرات دوراً أيضاً في إحداث تلك الجروح وتلوثها بالجراثيم، [17+23+10]

أما في منطقة القص والكتف فقد بلغت نسبة إصابة الخراجات 9 % ، وهي أقل مما أشار إليه الباحثين Menzies and Muckle 1989 و Hassan, *et al* 2011 وزملاؤه الباحثون وAsghar, *et al* 2009 وزملاؤه حيث كانت نسبة الإصابة بالخراجات في هذه المنطقة الكتف والقص التي ذكروها 18.1 %، و 26 %، و 32 %على التوالي، وقد يعود ذلك إلى وجود الغطاء الصوفي الكثيف الذي يؤمن الحماية لهذه المنطقة من الجروح والخدوش، ولا تلاحظ هذه الخراجات في هذه المنطقة إلا عند وجود صعوبة في حركة الحيوان، أو في حال كبر حجم الخراج لدرجة يسهل بها ملاحظته، أو أثناء الجز إذا كان الحيوان مصاباً حيث قد ينفجر الخراج ويلوث مقص الجز، وقد يحدث الخراج بعد الجز إذا كان الحيوان خالياً من الإصابة وبالتالي فإن مقص الجز الملوث يتسبب بنقل العدوى إلى حيوان آخر وذلك عند إحداث جروح أثناء الجز به، كما لم يتم ملاحظة خراجات القص والكتف عند ذكور التلقيح الكبيرة وقد يعود ذلك إلى الصوف الكثيف الذي يتركه المربي دون جز والذي يغطي هذه المنطقة بشكل كامل وبالتالي يحمي الحيوان من الإصابات في هذه المنطقة وخاصةً الإصابات الأولية، كما لم يلاحظ أي خراج عند الذكور والإناث الصغيرة في منطقة القص والكتف والتي لا يتم جزها إلا بعد سنة وقد تشير هذه النتيجة بوضوح إلى دور الجز ومقص الجز الملوث في نقل العدوى إلى هذه المنطقة. [39]

بينت النتائج أن نسبة الخراجات بين القوائم الخلفية (جلد الضرع وكيس الصفن) كانت 4.7%، وكانت نسبة الخراجات على جلد الضرع عند الإناث وحدها 4.4 %، وهي نسبة منخفضة إذا ما قورنت بنتائج الدراسة عموماً، إلا أنها متقاربة مع ماذكره Tadayon, *et al* 1980 وزملاؤه حيث أشاروا إلى أن نسبة خراجات الضرع كانت 5 % ، وقد يعود ذلك إلى أن هذه المنطقة رغم كونها غير محمية بالغطاء الصوفي فإنها أقل عرضة بكثير للجروح والخدوش و التلوث والناتجة عن الازدحام أو العراك أو التدافع على المعالف والمشارب، إلا أنها عرضة للخدوش من النباتات الشوكية وكذلك الحشرات والطفيليات الخارجية والتي تساهم في إحداث الخراجات في هذه المنطقة.

أما خراجات الغدة بين الظلفين فكان عددها 7 وبمعدل 2.3 % من إجمالي عدد العينات، وقد كانت مترافقة مع انسداد كامل للفتحة الخارجية للغدة بين الظلفين، وهذا يؤدي إلى حصر مفرزات الغدة بداخلها ومن ثم تضخمها والتي قد تترافق مع تكاثر بعض الجراثيم فيها مشكلةً خراج الغدة بين الظلفين.

لم تظهر النتائج ترابط وثيق بين صفات القيح والعوامل الجرثومية المسببة للخراجات، حيث اتصف القيح الحاوي على عصيات الوتدية السلية الكاذبة غالبا بقوام سميك مقارب لقوام معجون الأسنان وبلون كريمي أو أصفر مائل للخضرة وبدون رائحة، وتوافق هذا الوصف مع ما ذكرته بعض الدراسات السابقة، [47+43+40+19+17] والذي يعطينا اشتباهاً بوجود الوتدية السلية الكاذبة، في حين اتصف القيح الحاوي على جراثيم الشعية المقيحة بمعظمه بلون بني مخضر رائق مع رائحة كريهة، وقد تسببت بتنسيق ذكر أغنام كبير بظهور 4 خراجات حول القرن بعد حدوث كسر فيه نتيجة العراك، أما بقية الخراجات والتي عزلت منها العنقوديات والعقديات تراوحت ألوان القيح فيها بين الأبيض الكريمي إلى الأصفر الكريمي.

2.5 عزل وتصنيف المسببات الجرثومية:

عُزلت من الخراجات العديد من المسببات الجرثومية، كانت أهم تلك العزولات أنواع الوتديات التي بلغت نسبة عزلها 32% من مجموع عدد العينات الكلي، وهذه النسبة متباينة مع ماذكره كلٌ من Babiker and El Sanousi 2004 و Tadayon, *et al* 1980

وزملاؤه حيث بلغت نسبة عزل الوتديات من الخراجات السطحية عند الأغنام 24.1% ، 31.6% على التوالي.

ومن أهم المسببات عصيات الوتدية السلية الكاذبة وعزلت بنسبة 21.67%، وهذه النسبة متباينة إلى حد ما مع ماذكره كلاً من Tadayon, *et al* 1980 وزملاؤه و Hassan, *et al* 2011 وزملاؤه حيث كانت نسبة عزل الوتدية السلية الكاذبة من الخراجات السطحية عند الأغنام 26.3 % و 32 % على التوالي، في حين كانت تلك النسبة متباينة إلى حد كبير مع النسبة التي ذكرها Asghar, *et al* 2009 وزملاؤه حيث تراوحت نسبة عزل الوتدية السلية الكاذبة في سلالات الأغنام المحلية في السعودية بين 44.44 % و 60 %، وهي المتهمة في إحداث خراج العقد اللمفية التجبني، وهذا دليل على تكرار الخراجات السطحية في الأغنام العواس والمتسببة بها عصيات الوتدية السلية الكاذبة.

كذلك تم عزل عصيات الشعية المقيحة والتي أشار معظم الباحثين إلى أهميتها في تكون الخراجات وذلك بنسبة 14% وكانت هذه النسبة متوافقة مع ماذكره Tadayon, *et al* 1980 وزملاؤه حيث عزلوا الشعية المقيحة من الخراجات السطحية عند الأغنام في إيران بنسبة 15.79 %، ومع ذلك فقد أشار معظم الباحثين إلى أهميتها في إحداث الخراجات الداخلية في الكبد والرئة وحتي النخاع الشوكي.

كذلك عزلت أنواع العنقوديات بنسبة 39 % من مجموع عدد العينات الكلي، ومن أهم هذه الأنواع العنقوديات الذهبية والتي عزلت بنسبة 9 % من مجموع عدد العينات الكلي، وكذلك العنقودية البشروية والتي عزلت بنسبة 15 %، وتوافقت هذه النتيجة مع النسبة التي ذكرها Tadayon, *et al* 1980 والتي بلغت 10.53 %، ويشير تكرار عزل العنقوديات عموما إلى دورها في المشاركة بإحداث الخراجات.

كذلك عزلت أنواع العقديات بنسبة 15 % من مجموع عدد العينات الكلي، وكانت هذه النتيجة متقاربة نوعاً ما مع ماذكره Tadayon, *et al* 1980 وزملاؤه حيث بلغت النسبة عنده 21.05 %، وكانت نسبة عزل العقدية المقيحة 10 %، وكانت هذه النسبة عالية مقارنةً مع ما

ذكره Tadayon, *et al* 1980 وزملاؤه حيث بلغت 5.26 %، وقد يفسر ارتفاع تكرار عزل العقدية المقيحة كون الإنسان الثوي الخازن الرئيسي للعقديات من المجموعة A.

هناك خراجات ارتبطت بأنواع متعددة من الجراثيم، رغم أن المجموع الكلي لبعض هذه العزولات كان قليلا عند مقارنتها مع مجموع العزولات الكلي، والذي قد يكون بسبب تلوث العينات قبل الجمع، أو أنه دليل على وجود عدوى متعددة (لم تبحث بعد) إذ قد تتدخل في آلية إحداث العدوى وبالتالي قد تلعب دوراً ثانوياً في إحداث الإصابة.[42]

أظهرت النتائج بأن نسبة 23.33 % من مجموع العينات كانت سلبية للزرع الجرثومي، وإن هذه القيمة أعلى مما ذكره Tadayon, *et al* 1980 وزملاؤه حيث بلغت 10.53 %، ومما ذكره Babiker and El Sanousi 2004 حيث بلغت 2.5 %، وقد يفسر ذلك بدور المناعة الخلطية والخلوية المسؤولة عن تطور المرض، حيث تقوم الخلايا البلعمية المناعية بترشيح وبلعمة عدد قليل من الجراثيم مثل عصيات الوتدية السلية الكاذبة القادرة على قتلها، وعموماً تكون هذه الخلايا قادرة على التحكم بالمرض، وتتخلص أحيانا من الإصابة في البؤرة الأولية على الأقل، بحيث أنها إما أن تتسبب بجفاف محتوى الخراج وبالتالي موت المسببات الجرثومية داخلها أو أن تدفع بها خارج الجسم عند نضوج الخراج.[14]

ومن الجدير بالذكر أن نسب عزل هذه المسببات الجرثومية سواءً عند الأغنام أو الحيوانات الأخرى متباينة حسب المنطقة ونوع الحيوان ومقاومته والظروف البيئية المحيطة بالحيوان،[8] حيث من الصعوبة بمكان مقارنتها مع نتائجنا، بالإضافة إلى خواص تلك الجراثيم من حيث قدرتها على التكيف مع الظروف البيئية المحيطة، حيث تشير الأبحاث إلى أن تلك الجراثيم قادرة على البقاء عدة أشهر في المواد العضوية،[13] كما أن الحيوان المصاب بها يبقى حاملاً للعدوى مدى الحياة.[42+14]

3.5 اختبار التحسس للمضادات الحيوية:

أظهرت نتائج اختبارات التحسس للمضادات الحيوية بأن عزولات الوتدية السلية الكاذبة كانت حساسة للتايلوزين والدوكسي سايكلين والكلورامفنيكول، ومتوسطة الحساسية للبنسلين

والإمبسيلين والأموكسيسلين والإنروفلوكساسين والأوكسي تتراسيكلين والكاناميسين والجنتاميسين والكولستين، ومقاومة للسيبروفلوكساسين والنيوميسين والإريثرومايسين، وكانت هذه النتائج متقاربة إلى حد ما مع ما ذكره Asghar, *et al* 2009 وزملاؤه والذين أشاروا إلى أن الوتدية السلبية الكاذبة حساسة للبنسلين ومتوسطة الحساسية للدوكسي سيكلين والاريثروميسين ومقاومة للامبسيلين والنيوميسين، وما ذكره Hassan, *et al* 2011 وزملاؤه بأنها حساسة للتايلوزين والدوكسي سايكلين ومتوسطة الحساسية للأوكسي تتراسيكلين والكاناميسين والجنتاميسين والأموكسيسلين ومقاومة للبنسلين والكولستين والإريثرومايسين، ومع ما ذكره Maduat and Abdelgadir 2011 بأنها حساسة للأوكسي تتراسيكلين والسيبروفلوكساسين والجنتاميسين والإريثرومايسين ومقاومة للبنسلين، وما ذكره Tonpitak, *et al* 2008 وزملاؤه بأنها حساسة للإنروفلوكساسين والبنسلين والأوكسي تتراسيكلين والأموكسيسلين ومقاومة للجنتاميسين.

كما أظهرت النتائج بأن عزولات الشعية المقيحة حساسة للتيلوزين والدوكسي سايكلين والكلورامفنيكول، ومتوسطة الحساسية للبنسلين والأمبسيلين والأموكسيسلين والأنروفلوكساسين والسيبروفلوكساسين والأوكسي تتراسيكلين والكاناميسين والجنتاميسين والنيوميسين والأريثروميسين، ومقاومة للسيبروفلوكساسين والكولستين، وقد تباينت هذه النتائج مع ماذكره Maduat and Abdelgadir 2011 حيث أشار إلى أن الشعية المقيحة حساسة للجنتاميسين، ومتوسطة الحساسية للأوكسي تتراسيكلين والسيبروفلوكساسين، ومقاومة للبنسلين والأريثروميسين.

وأظهرت النتائج بأن عزولات العنقودية الذهبية حساسة للأنروفلوكساسين والأوكسي تتراسيكلين والدوكسي سايكلين والنيوميسين والكلورامفنيكول والكولستين، ومتوسطة الحساسية للأموكسيسلين والسيبروفلوكساسين والكاناميسين والجنتاميسين، ومقاومة للتايلوزين والبنسلين والأمبسيلين والأريثروميسين، وقد توافقت إلى حد ما هذه النتيجة مع ماذكره Akhter,*et al* 2009 وزملاؤه حيث أشاروا إلى أن العنقودية الذهبية حساسة للأموكسيسلين والسيبروفلوكساسين ومقاومة للبنسلين والأريثروميسين والجنتاميسين، وتباينت مع ما ذكره Tadayon, *et al* 1980 وزملاؤه من أن العنقودية الذهبية حساسة للنيوميسين

والكلورامفنيكول والكاناميسين والبنسلين والأمبسيلين، ومتوسطة الحساسية للنيوميسين، ومقاومة للأوكسي تتراسيكلين والبنسلين، وتباينت مع ماذكره Brinda, *et al* 2010 وزملاؤه حيث أشاروا إلى أن العنقودية الذهبية متوسطة الحساسية للأموكسيسلين والجنتاميسين والكاناميسين ومقاومة للأريثروميسين والتيلوزين والأمبسيلين والأوكسي تتراسيكلين.

وأظهرت النتائج بأن عزولات العقدية المقيحة حساسة للأوكسي تتراسيكلين والدوكسي سايكلين والجنتاميسين والبنسلين والأمبسيلين والأموكسيسلين والأنروفلوكساسين والسيبروفلوكساسين والكلورامفنيكول ومتوسطة الحساسية للأريثروميسين ومقاومة للكاناميسين والنيوميسين والكولستين والتيلوزين، وقد توافقت إلى حد ما مع ما ذكره Ray, *et al* 2010 وزملاؤه حيث أشاروا إلى أن العقدية المقيحة حساسة للبنسلين والأريثروميسين ومقاومة للأوكسي تتراسيكلين، وكذلك توافقت إلى حد ما مع ما ذكره Grivea, *et al* 2006 وزملاؤه حيث أشاروا إلى أنها حساسة للبنسلين والأموكسيسلين والأريثروميسين والأوكسي تتراسيكلين والسيبروفلوكساسين.

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions & Recommendations

الفصل السادس

6. الاستنتاجات والتوصيات
Conclusions & Recommendations

1.6 الاستنتاجات:

1. تبين من هذه الدراسة أن أكثر مناطق الجسم عند الأغنام العواس عرضة لتكون الخراجات هي منطقة الرأس والثلث الأول من الرقبة.
2. إن نسبة حدوث الخراجات السطحية في المنطقة الشرقية من سوريا عموماً أقل مما هو عليه الحال في بلدان أخرى مثل السودان والسعودية.
3. ارتفاع نسبة حدوث الخراجات عند القطعان التي ترعى في مراعي تكثر فيها النباتات الشوكية وبقايا المحاصيل الزراعية المتخشبة.
4. يزداد حدوث الخراجات لدى الأغنام عموماً بزيادة العمر، وذلك نتيجة لزيادة فترة تعرضها لمسببات الخراجات في البيئة الملوثة.
5. يحدث خراج الغدة بين الظلفين نتيجة لانسداد الفتحة الخارجية للغدة وبالتالي عدم القدرة على تفريغ محتوياتها.
6. عُزلت أنواع الوتديات من الخراجات السطحية عند الأغنام العواس في سوريا، ومن أهم أنواعها الوتدية السلية الكاذبة والتي عزلت بنسبة 21.67%.
7. عُزلت الشعية المقيحة بنسبة 14% ، والتي تعتبر من المسببات الهامة في إحداث الخراجات السطحية عند الأغنام.
8. ظهور دور العنقوديات وبشكل خاص العنقودية الذهبية والعنقودية البشروية في إحداث الخراجات السطحية عند الأغنام.
9. عُزلت أنواع العقديات والتي تساهم في إحداث الخراجات السطحية عند الأغنام العواس ومن أهمها العقدية المقيحة والتي يعتبر الإنسان الثوي الخازن لها.
10. أظهرت النتائج أن الشعية المقيحة وأنواع الوتديات حساسة للتايلوزين والدوكسي سايكلين بالإضافة إلى أن أنواع الوتديات عموماً حساسة للكلورامفينيكول، وجميعها متوسطة الحساسية للأوكسي تتراسيكلين والإنروفلوكساسين والجنتاميسين والسيبروفلوكساسين.
11. وأظهرت النتائج أن أنواع العنقوديات عموماً حساسة للإنروفلوكساسين ومتوسطة الحساسية للجنتاميسين، وكانت العنقودية الذهبية حساسة للكلورامفينيكول والأوكسي

تتراسيكلين، وكانت العنقودية البشروية متوسطة التحسس للكاناميسين والنيوميسين والتايلوزين.

12. بينت النتائج أن أنواع العقديات حساسة بشكل عام للأموكسيسلين والأمبسيلين والجنتاميسين والدوكسي سايكلين والكلورامفنيكول.

2.6 التوصيات:

1) إزالة الأطراف الحادة الموجودة في المعالف والمشارب وكذلك المحاصر والأسلاك والتخلص منها والتي قد تتسبب بإحداث الجروح والسحجات للأغنام ممهدةً لحدوث العدوى عبر الجلد.
2) تعقيم محقن التلقيح ومقص الجز وغيرها من الأدوات التي تستعمل لأكثر من مرة بين كل حيوان وآخر.
3) إتباع إجراءات الصحة الوقائية لتجنب حدوث عدوى بشرية وتجنب نقل العدوى من حيوان إلى آخر.
4) عزل الحيوان المصاب بخراج سطحي ومعالجته إما بالاستئصال الجراحي للخراج أو تصريف القيح منه وغسله جيدا بالمعقمات (بيروكسيد الصوديوم، محلول اليود) وعدم إعادتها للقطيع حتى الشفاء التام، وذلك لتجنب تلوث المرعى ونقل العدوى إلى الغنام الأخرى.
5) تجنب رعي الأغنام في المناطق التي تكثر بها النباتات الشوكية ما أمكن والتي تتسبب بحدوث الجروح وخدوش حول الشفاه وفي التجويف الفموي.
6) تجنب حصر الحملان الصغيرة مع الأغنام الكبيرة عند التلقيح أو الجز أو بغية مكافحة الطفيليات الخارجية (الرش أو التغطيس) ما أمكن وإن كان ولا بد من ذلك فيجب البدء بالحيوانات الأصغر في العمر.

الفصل السابع

7.الملخص

أُجريت الدراسة على 127 قطيع من أغنام العواس في محافظة دير الزور في المنطقة الشرقية من سوريا، وكان عدد الأغنام الكلي في تلك القطعان 33,868 رأس، حيث جُمعت **300** عينة خراج سطحي من 249 حيوان مصاب، في الفترة الواقعة بين 2009/2/1 م حتى 2010/6/30 م، وذلك لعزل المسببات الجرثومية من تلك الخراجات السطحية.

أظهرت نتائج الفحص السريري أن أعلى نسبة للخراجات السطحية عند الأغنام العواس في منطقة الرأس والرقبة، حيث بلغ عددها 252 خراج (بنسبة 84%) من مجموع الخراجات الكلي، تلتها منطقة القص والأكتاف وقد بلغ عددها 27 خراج (بنسبة 9%)، ثم الجزء الخلفي من الخاصرة وحتى الإلية حيث بلغ عدد الخراجات فيها 21 خراج (بنسبة 7%)، وإن متوسط عدد الأغنام المصابة بالخراجات السطحية في القطعان المصابة كان 1.95% وأعلى نسبة حدوث كانت 8.7% ، وأدنى نسبت حدوث كانت 0.18 %، في حين كانت نسبة الأغنام المصابة بالخراجات السطحية 0.74 % وذلك من المجموع الكلي لأغنام الدراسة.

أظهرت نتائج الزرع الجرثومي أن 70 عينة كانت سلبية للزرع الجرثومي، و 230 عينة كانت إيجابية للزرع الجرثومي، حيث عزل منها عدة أنواع من الجراثيم وهي أنواع العنقوديات *Staphylococcus .spp* وأنواع الوَتَديّات *Corynebacterium .spp* وأنواع العَصويات *Bacillus .spp* وأنواع المُكَيِّرات *Micrococcus .spp* وأنواع العقديات *Streptococcus .spp* والشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes* وأنواع الأمْعائيَّة *Enterobacter .spp* والإشريكية القولونية *Escherichia coli* وأنواع الكليْبسيلّة *Klebsiella .spp* وأنواع الزوائف *Pseudomonas .spp* وكان معدل عزل هذه الجراثيم 39% , 32% , 22%، 16%, 15%, 14%, 12%, 3%, 2%,1% من إجمالي عدد العينات الكلي على التوالي.

وأهم هذه المسببات الجرثومية هي الوتدية السلية الكاذبة *Corynebacterium pseudotuberculosis* ، والشعية المقيحة *Arcanobacterium pyogenes* ، والعنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*، والعنقودية البشروية *Staphylococcus epidermidis* والعقدية المقيحة *Streptococcus pyogenes* بمعدل عزل 21,76% , 14 % , 15 % , 9 % , 10 % على التوالي من عدد العينات الكلي.

أظهرت نتائج اختبار التحسس للمضادات الحيوية أن عزولات الوتدية السلية الكاذبة كانت حساسة للتايلوزين، والكلورامفنيكول، والدوكسي سايكلين، ومتوسطة التحسس للإنروفلوكساسين، والجنتاميسين، والكانامايسين، والأوكسي تتراسيكلين، والأموكسيسلين، كما أظهرت أن عزولات الشعية المقيحة حساسة للتايلوزين والدوكسي سايكلين والكلورامفينيكول، ومتوسطة الحساسية للإمبسلين، والإنروفلوكساسين، والبنسلين، والأموكسيسلين، والأوكسي تتراسيكلين، والجنتاميسين، والإريثرومايسين، والسيبروفلوكساسين، والنيومايسين والكاناميسين، وأن عزولات العنقودية الذهبية كانت حساسة للإنروفلوكساسين، والكلورامفينيكول، والدوكسي سايكلين والنيوميسين والكولستين والأوكسي تتراسيكلين، ومتوسطة الحساسية للجنتاميسين والسيبروفلوكساسين والأموكسيسلين والكاناميسين، أما عزولات العنقودية البشروية فقد كانت حساسة للإنروفلوكساسين والسيبروفلوكساسين والكلورامفينيكول، ومتوسطة التحسس للكانامايسين، والنيومايسين، والجنتاميسين، والتايلوزين والإريثرومايسين، وكانت عزولات العقدية المقيحة حساسة للأموكسيسلين، والإمبسيلين، والبنسلين، والجنتاميسين، والإنروفلوكساسين، والسيبروفلوكساسين، والدوكسي سايكلين والأوكسي تتراسيكلين، والكلورامفينيكول، ومتوسطة التحسس للإريثرومايسين.

7. Abstract

The study was performed on 127 flock from Awassi sheep in Dier Al-Zour at the eastern area from Syria, the total number of sheep in these flocks was 33,868. Three hundred Samples were collected from superficial abscess at 249 infected sheep in the period between 1/2/2009 to 30/6/2010 for isolation Bacteria causing superficial abscess.

The results of clinical examination showed that maximum percentage for superficial abscess at Awassi sheep was in the head and neck where the number 252 abscess from the total abscess with percentage (84%), therewith the chest and shoulder where the number 27 abscess from the total abscess with percentage (9%), therewith the retro part of flank , tail where the number 21 abscess from the total abscess with percentage (7%).

The average of number infected sheep by superficial abscess from infected flocks was 1.95%, The maximum percentage incidence was 8.7% The minimum percentage incidence was 0.18 % , where the percentage of infected sheep by superficial abscess was 0.74% from the total number of study sheep.

The results of bacterial examination showed that 70 sample were negative for bacterial culture, and 230 sample were positive for bacterial culture. Many kinds of bacteria were isolated such as *Staphylococcus .spp, Corynebacterium .spp, Bacillus .spp, Micrococcus .spp, Streptococcus .spp, Arcanobacterium pyogenes, Enterobacter.spp, Escherichia coli, Klebsiella .spp, Pseudomonas .spp,* and their percentages were %39, %32 ,%16 ،%22 ,%15 ,%14 ,%12 ,%3 ,%2 ,%1 respectively from the total samples, These bacteria were *Corynebacterium pseudotuberculosis, Arcanobac- terium pyogenes, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus pyogenes*, and their percentages were 21 ,76% , 14 % , 15 % , 9 % , 10% respectively from the total samples.

The results of sensitivity test to antibiotic revealed that isolates of *Corynebacterium pseudotuberculosis* were sensitive to Tylosin, Chloramphenicol, Doxicyclin, and sensitive intermediate to Enrofloxacin,

Gentamicin, kanamycin, Oxytetracycline, Amoxicillin, where isolates of *Arcanobacterium pyogenes* were sensitive to Tylosin, Doxicyclin, Chloramphenicol, and sensitive intermediate to Ampicillin, Enrofloxacin, Penicillin, Amoxicillin, Oxytetracycline, Gentamicin, Erythromycin, Ciprofloxacin, Neomycin, kanamycin, the isolates of *Staphylococcus aureus* were sensitive to Enrofloxacin, Chloramphenicol, Doxicyclin, Neomycin, Colistin sulphate, Oxytetracycline, and sensitive intermediate to Gentamicin, Ciprofloxacin, Amoxicillin, kanamycin, the isolates of *Staphylococcus epidermidis* were sensitive to Enrofloxacin, Ciprofloxacin, Chloramphenicol, and sensitive intermediate to kanamycin, Neomycin, Gentamicin, Tylosin, Erythromycin, the isolates of *Streptococcus pyogenes* were sensitive to Amoxicillin, Ampicillin, Penicillin, Gentamicin, Enrofloxacin, Ciprofloxacin, Doxicyclin, Oxytetracycline, Chloramphenicol and sensitive intermediate to Erythromycin.

References

1. Aitken, I.D.(2007): Diseases of the skin, wool and eyes, In;Diseases of Sheep, *Blackwell Publishing, Fourth Edition* ,p:297-358.
2. Akhter, R.; A Khan, M.K. and Hasan, F. (2009). Isolation And Antimicrobial Susceptibility Pattern of Methicillin Resistant And Methicillin Sensitive *Staphylococcus Aureus*. *Journal of Surgery Pakistan* (International). 14 (4): 161-165.
3. Asghar, A.; Hassanien, O.; Zafar, T.; Mashaat, B. And Abdel-Latif, S. (2009). Epidemiological Study on *Corynebacterium pseudotuberculosis* In Imported and Native Sheep Ready For Slaughter During Hajj Season 1426H. *Journal of Agricultural and Veterinary Sciences*, VOL.2, P;25-32.
4. Babiker, A.and El Sanousi, S.(2004). Effects of Fattening on the Occurrence of Sheep Abscess Disease; Morel's Disease, *Deutscher Tropentag*, 5-7.
5. Baird, G. J. and Fontaine, M. C. (2007). *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its Role in Ovine Caseous Lymphadenitis. *Journal of Comparative Pathology*, 137: 179-210.
6. Brinda, M.; Herman, V. and Faur, B. (2010).Antimicrobial Sensitivity of Some *Staphylococcus Aureus* Strains From Bovine Mastitis. Faculty of Veterinary Medicine Timisoara, 119:102-105.
7. Brown, C. C.; Olander, H. J. and Alves, S. F. (1987). Synergistic Hemolysis-Inhibition Titers Associated with Caseous Lymphadenitis in a Slaughterhouse Survey of Goats and Sheep in Northeastern Brazil. *Can J Vet Res*, 51: 46-49.
8. Carter, G.M.; Chengappa, M.M.and Roberts, A.W.(1995). *Essentials of Veterinary Microbiology*, fifth edition,
9. Collins, M. D.; Hutson, R. A.; Hoyles, L.; Falsen, E.; Nikolaitchouk, N. and Foster, G.(2001). *Streptococcus ovis* sp. nov., isolated from sheep, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51: 1147–1150.
10. Eckersall, P. D.; Lawson, F. P.; Bence, L.; Waterston, M. M.; Lang, T. L.; Donachie, W. and Fontaine, M. C. (2007). Acute phase protein response in an experimental model of ovine caseous lymphadenitis, *BMC Veterinary Research*, 10;1186.

11.El Sanousi, S.M.; Hamad, A.A.and Gameel, A.A.(1989). Abscess disease in goats in the Sudan, *Elev. Med. vet. Pays trop.* 42 (3): 379-382.

12.Ertap, H. B.; Kili, A.; Ozbey, G.; Muz, A.(2005). Isolation of *Arcanobacterium (Actinomyces) pyogenes* from Abscessed Cattle Kidney and Identification by PCR, *Turk J Vet Anim Sci,* 29: 455-459.

13.Gerlach, B. M.; Houser, T. A.; Hollis, L. C.; Tokach, M. D.; Nietfeld, J. C.; Higgins, J.J. ; Anderson, G. A. and Goehring, B. L.(1994). Incidence and Severity of *Arcanobacterium pyogenes* Injection Site Abscesses with Needle or Needle-Free Injection Methods, *American J. of Veterinary,* P:270-273.

14.Gezon, H. M.; Bither, H. D.; Hanson, L. A.and Thompson, J. K.(1991). Epizootic of external and internal abscesses in a large goat herd over a 16-year period, *javma* , 198: 257/263.

15.Gillespie,S. H. and Hawkey,P. M.(2006). Principles and practice of clinical bacteriology, 2nd ed, *John Wiley & Sons Ltd,* P: 3-115.

16.Glenn J. S. and Karen, W. P. (2005). Veterinary Microbiology: Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease, *Elsevier Saunders, 9.th.ed,* P: 10-80.

17.Goda t, A. S.A.; Mahmoud, M. A.; Osman,W. A.; Ziada, N.A. and Moussa, I. M. (2007)Molecular characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolated from sheep by random amplified polymorphic DNApolymerase chain reaction (RAPD-PCR). *BS. VET. MED. J. VOL. 17, No.1,* p.39-49.

18.Goldman,E. and Green L. H. (2009). Practical Handbook of microbiology, Second Edition, CRC Press, *Taylor & Francis Group,*P: 275-374.

19.Grivea, I. N.; Al-Lahham, A.; Katopodis, G. D.; Syrogiannopoulos, G. A. and Reinert, R. R. (2006). Resistance to Erythromycin and Telithromycin in *Streptococcus pyogenes* Isolates Obtained between 1999 and 2002 from Greek Children with Tonsillopharyngitis: Phenotypic and Genotypic Analysis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 50: 256–261.

20.Guimaraes, A.; Carmo, F. B.; Pauletti, R. B.; Seyffert, N.; Ribeiro, D.; Lage, A. P.; Heinemann, M. B.; Miyoshi, A.; Azevedo, V. and Gouveia, A. M. G. (2010). Caseous Lymphadenitis: Epidemiology, Diagnosis, And Control. *The IIOAB Journal.* Vol. 2: 33-43.

21. Gyles, C. L.; Prescott, J. F.; Songer,J. G. and Thoen, C. O.(2004). Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals, *Blackwell Publishing,Third Edition*, P:23-86.

22.Hassan, N.A.; Al Humiany, A.A.; Bahobail, A.S. and Mansour, A.M.A. (2011). Bacteriological and Pathological Studies on Caseous Lymphadenitis in Sheep in Saudi Arabia, *International Journal of Microbiological Research* 2(1): 28-37.

23.Hirsh, D.C. and Zee, Y.C.(1999). Veterinary Microbiology, *Blackwell Science*,P:115-134.

24.Ivanovic, S.; Zutic, M.; Pavlovic, I. and Zujovic, M. (2009).Caseous Lymphadenitis In Goats. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 25 (5-6). P: 999-1007.

25.Jost, B. H. and Billington, S. J. (2005). Arcanobacterium pyogenes: molecular pathogenesis of an animal opportunist, *Antonie van Leeuwenhoek*, 88: 87–102.

26.Kanoe, M.; Nouka, K. and Toda, M.(1984). Isolation Of Obligate Anaerobic Bacteria From Bovine Abscesses In Sites Other Than The Liver,*J Med Microbiol*,18:365/369.

27.Kusiluka, L. and Kambarage, D. (1996). Diseases Of Small Ruminants in Sub-Saharan Africa, *VETAID*, P: 24-62.

28.Lavın, S.; Ruiz-Bascaran, M.; Marco, I.; Abarca, M.L.; Crespo, M. J. and Franch, J.(2004). Foot Infections Associated with *Arcanobacterium pyogenes* in Free-living Fallow Deer, *Journal of Wildlife Diseases,* P: 607–611.

29.Lloyd, S. (1994). Caseous lymphadenitis in sheep and goats. *In Practice*.16: 24-29.

30.Lloyd, S.(1998). Caseous Lymphadenitis in Sheep and Goats. In; Sheep and Goat Practice 2. *Philadelphia: WB Saunders*, 185-196.

31.Luther, J. and Stoltenow, C. (1998).Caseous Lymphadenitis Is It a Problem in Your Flock or Herd. *Journal of The American Veterinary Medical Association*. pp: 1765-1768.

32.Madut, N. A. and Abdelgadir, A. E. (2011). Susceptibility of *Corynebacterum spp.* responsible for bovine mastits against commonly used antibiotics in Kuku dairy farms, Sudan. *Journal of Cell and Animal Biology* , Vol. 5(1), P: 6-10.

33.Mashhadi, A. G.; Poor ,M. G.and Soleimani ,M. (2006). Bacteriological Study of Liver Abscesses in Sheep in Ahvaz of Iran, *Pakistan J ournal of Biological Sciences*, 9 (11): 2162-2164.

34.Menzies, P. I. and Muckle, C. A.(1989). The Use of a Microagglutination Assay for the Detection of Antibodies to Corynebacterium pseudotuberculosis in Naturally Infected Sheep and Goat Flocks, *Can J Vet Res*, 53: 313-318.

35.Nagaraja, T. G.; Beharka, A. B.; Chengappa, M. M.; Carroll, L. H.; Raun, A. P.; Laudert, S. B. and Parrott, J. C.(1999). Bacterial Flora of Liver Abscesses in Feedlot Cattle Fed Tylosin or No Tylosin, *J Anim Sci* ,77:973-978.

36.North, R.(2004). Goat health;caseous lymphadenitis ;cheesy gland, *Agfact A7.9.8*, second edition,

37.Pacheco, L. G.; Slade, S. E .; Seyffert, N.; Santos, A. R.; Castro, T. L.; Silva ,W. M.; Santos, A. V.; Santos, S. G.; Farias, L. M.; Carvalho, M. A.; Pimental, A. M.; Meyer, R.; Silva, A.; Scrivens, J. H.; Oliveira, S. C.; Miyoshi, A.; Dowson, C. G. and Azevedo, V. (2011). A combined approach for comparative exoproteome analysis of *Corynebacterium pseudotuberculosis . Pacheco et 01. BMC Microbiology.* 10;1186.

38.Palmer, M. V.and Whipple,D. L. (1999). *Arcanobacterium pyogenes* as a cause of fatal pleuropneumonia after capture and transport of white-tailed deer, *J Vet Diagn Invest*, 11: 468–471.

39.Parussel, H.; Hunsinger, B.; Philipp, W. and Bohm, R. (2005). Disinfection Of Shearing Clippers To Prevent Pseudotuberculosis In Sheep. *ISAH*, Warsaw, Poland. Vol 2,P: 279- 281.

40.Paton ,M. W. (2010). The Epidemiology and Control of Caseous Lymphadenitis in Australian Sheep Flocks. *Grad Cert Animal Welfare.*

41.Paton ,M.(2005). Cheesy gland in sheep and goats, *Replaces Farmnote 30/97*,ISSN 0726-934X.

42.Pedro, N. A. and Szyfres, B.(2001). Zoonoses And Communicable Diseases Common To Man And Animals, In; Bacterial Infections And Mycoses, Third Edition, *Scientific and Technical Publication,* P:191-262.

43.Quinn, P.J.; Carter, M.E.; Markey, B. and carter, G. R. (1999). Clincal veterinary microbiology, *Mosby, 3.th.ed*, P: 21-155.

44.Ray, D.; Sinha, S.; Saha, S.; Karmakar, S.; Dutta, R. N.; Bhattacharya, S.; Pal, N. K. and Bhattacharya, B.(2010). A Preliminary Sentinel Surveillance Report on Antibiotics Resistance Trend of *Streptococcus*

Pyogenes in Kolkata Region, India. *Al Ame en J Med S c i* , 3 (2) :146 - 151.

45.Scott, P. (2011). Caseous Lymphadenitis (CLA). *NADIS livestock health bulletins.*

46.Stauber, E.; Armstrong, P. and Chamberlain,K. (1973). Caseous Lymphadenitis In A White-Tailed Deer. *Journal of Wildlife Diseases.* Vol; 9. P:56-57.

47.Tadayon, R. A.; Cheema, A. H.and Muhammed, S. I.(1980). Microorganisms Associated with Abscesses of Sheep and Goats in the South of Iran, *Am J Vet Res*, 41:798-802.

48.Tadich, N.; Alvarez, C.; Chacon, T. and Godoy, H. (2005). Caseous Lymphadenitis (CLA) in sheep at the XI Region of Chile. *Arch. Med. Vet.* 37, N° 2, P: 161-167.

49.Tonpitak, W.; Sonklein, C.; Chawanit, M. and Suwannakhen, S. (2008). *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar ovis identification and their drug susceptiblility from samples in Mahanakorn Veterinary Diagnostic Center. Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Thailand, 10530.

50.Trost, E.; Ott, L.; Schneider, J.; Schroder, J.; Jaenicke, S.; Goesmann, A.; Husemann, P.; Stoye, J.; Dorella, F.A.; Rocha, F.S.; Soares, S.C.; Afonseca, V. D.; Miyoshi, A.; Ruiz, J.; Silvas, A.; Azevedo, V.; Burkovski, A.; Guiso, N.; Join-Lambert, O. F.; Kayal, S. and Tauch, A. (2010).The complete genome sequence of *Corynebacterium pseudotuberculosis* FRC41 isolated from a 12-year-old girl with necrotizing lymphadenitis reveals insights into generegulatory networks contributing to virulence. *Trost et al. BMC Genomics*, 11:728.

51.Walker,B.(1996).Cheesy Gland Caseous Lymphadenitis in Sheep, *Agfact A3.9.21*, 2nd edition.

52.Zavoshti, F. R.; Khoojine, A. B. S.; Helan, J. A.; Hassanzadeh, B. and Heydari, A. A. (2010). Frequency of caseous lymphadenitis (CLA) in sheep slaughtered in an abattoir in Tabriz: comparison of bacterial culture and pathological study. *Camp Clin Pathol.* DOI 10.1007/s00580-010-1154-7.

فهرس المحتويات

فهرس الجداول

فهرس المخططات

فهرس الصور

فهرس الاختصارات

الاختصار	الاسم الانكليزي	الاسم العربي
CLA	Caseous Lymphadenitis	التهاب العقد اللمفية التجبني
PLD	Phospholipase D	الفوسفوليباز د
ELASI	Enzymelinked immunosorbent assay	المقايسة الامتصاصية المناعية للإنزيم المرتبط
PLO	Pyolysin	بيوليسين
CBCs	Cholesterol Binding Cytolysins	حال الخلايا المرتبط بالكولسترول
DNase	Deoxyribonuclease	ديوكسي ريبو نوكلياز
SlgA	Secretory Immunoglobulin A	الغلوبولينْ المَناعِيّ المُفْرِز A

Syrian Arab Republic
Al-Baath University
Faculty of Veterinary Medicine
Department of Microbiology

Investigation For Bacterial Causes Of Superficial Abscesses At Awassi Sheep In Eastern Region Of Syria

Thesis Presented by
Sulaiman AL- Hawala
Diploma. Vet. Med. (D.V. M.) Microbiology

For
Master Degree in Vet. Med. Sc
Microbiology

Under the supervision of

Assistant Prof. Dr.
Ibrahim Rifai
Scientific supervision
Department Of Microbiology

2012

EFFECT OF MATURITY STAGES FOR WINTER- AND SPRING-SOWN CHICKPEAS ON GERMINATION AND VIGOR OF THE HARVESTED SEEDS

إنتاج نباتي

By

Anas Ezziddine Abu-Yahya

Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of M.Sc. in Plant Production/ Field Crops

At
Faculty of Graduate Studies
Jordan University of Science and Technology

May 2006

Signature of Author..

<u>Committee Members:</u> <u>Signature and Date</u>

Dr. Nezar Samarah (Chairman)...

Prof. Hani Gousheh...

Prof. Munir Turk...

Dr. Hani Saoub (Cognate, University of Jordan)...........................

EFFECT OF MATURITY STAGES FOR WINTER- AND SPRING-SOWN CHICKPEAS ON GERMINATION AND VIGOR OF THE HARVESTED SEEDS

By

Anas Ezziddine Abu-Yahya

Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of M.Sc. in Plant Production/ Field Crops

At
Faculty of Graduate Studies
Jordan University of Science and Technology
May 2006

Signature of Author..

Committee Members: Signature and Date

Dr. Nezar Samarah (Chairman).. June 20, 2006

Prof. Hani Gousheh.. June 20, 2006

Prof. Munir Turk.. June 20, 2006

Dr. Hani Saoub (Cognate, University of Jordan)........................ June 21, 2006

EFFECT OF MATURITY STAGES FOR WINTER- AND SPRING-SOWN CHICKPEAS ON GERMINATION AND VIGOR OF THE HARVESTED SEEDS

JORDAN UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

MAY, 2006

DEDICATIONS

- To those whom live in my heart, my faithful family;

My mother and father...

Brothers Salah and Khaled...

Big brothers Nabhan, Adnan, Asa`d and their families...

Sisters and their families...

- To everyone who waited this moment;

- Special dedication to Dr. Omar Haieder Ameen...

Anas Abu-Yaha
25/5/2006

ACKNOWLEDGMENTS

I should express my deepest thanks to "ALLAH" from whom I got every thing to finish this work.

I would like to express my sincere gratitude and appreciation to my advisor Dr. Nezar Samarah, for his patience, continuous supervision, encouragement and generous help throughout this study and preparation of the thesis.
Thanks are also extended to all my members of the examining committee: Prof. Hani Gousheh, Prof. Munir Turk, and Dr. Hani Saoub for their interest and reviewing the manuscript.

I would like to express my thanks to the National Center for Agriculture Research and Technology Transfer (NCARTT) employees, and my special deeply thankful to Eng. Sae`da Arabeiat, Eng. Nawal Hajjaj (Department of Rainfed Agriculture) , Eng. Hussam and Eng. Khaled (Plant Analysis Laboratories) for their un-limited help and support.
Thanks are also extended to every one in Maru Station for Agricultural Research's for their help during the field-experiment period.

Words can not express my feelings towards my family, who made it possible for me and for their support, kindness and special care during my study and research.

I'm grateful to my friends Ahmad Arqawy, Loa`y Keswany, Obadah Al-Fahmawy, Waheeb Abu-Elbeh, Anas Al-Qaiesy, Kamal Abu-Ayyash, Baha` Al-Barakat, Hammam Fakrey, Fadi Sabbah, Emad Betawie, Loa`y Habbob, Abed El-Hady Al-Amory, Mhammad Lotfy, Sa`d Stetieh, Mhammad Nassar, Obadah Theneibat, Feras Mansour, Ibrahim Abu-Al Ruz, Salah Jadallah, Yahya Othman, Ahmad Al-Hourany, Mahmoud Kashashneh, Emad Tahtamouny, Mohammad Hawatmeh, Malek Al-Ajlouny, and every one that may I forget to mention at this moment, for supporting and assistance during this works.

LIST OF CONTENTS

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

LIST OF APPENDICES

ABSTRACT

Effect of maturity stages for winter- and spring-sown chickpea on germination and vigor of the harvested seeds

By:
Anas Ezziddine Abu-Yahya
Chairman:
Dr. Nezar Hussein Samarah

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is the most important food legume in Jordan. Little information is available about the effect of planting date and seed maturity on seed germination and vigor of chickpea. Field experiments were conducted for two-years at Maru Station for Agricultural Research's (a semiarid Mediterranean region 34`N 40 'S with 90 m latitude), North of Jordan, to study the effects of two planting dates (winter and spring) and five maturity stages of chickpea cultivar "Jubiha-2" on the germination and vigor of harvested seeds. In 2003 and 2004, chickpea seeds were planted on late December (winter-sown) and early March (spring-sown) and plants were harvested at five pod maturity stages: 1) beginning of seed fill (BS), 2) full-size seed (FS), 3) greenish-yellow pod (GY), 4) yellow pod (Y), and 5) brown pod (B). Seed standard germination test (SG) and vigor tests as estimated by the accelerated aging (AA), electrical conductivity (EC), seedling dry weight (SDW), and cold test, were measured for the harvested seeds. Seeds attained maximum standard germination when seeds were harvested at the B stage. Maximum germination after cold test and minimum electrical conductivity of seed leachates were attained when seeds were harvested at the Y stage in 2003 and 2004 growing seasons. Maximum germination after accelerated aging test and maximum seedling dry weight was attained when seeds were harvested at the B stage. Seeds harvested at the Y stage from winter-sown plants had higher AA and SDW than those seeds from spring-sown plants. Seeds harvested at the B stages did not differ in seed quality between planting dates. These results suggest that tests of standard germination, seedling dry weight, and accelerated aging were the best to assess seed quality in chickpea. Planting date reduced the vigor of the seeds harvested at the Y stage, but had no effect on the germination and the vigor of the seeds harvested at the B stage. The seeds harvested at the Y stage from spring-sown plants had lower content of N, P, Ca, Mg, Zn, and Co than those harvested from winter-sown plants. Delay seed harvesting to the B stage increased seed nutrient contents in the spring-sown plants. In conclusion, the best seed germination, vigor and nutrient contents of chickpea was achieved by planting seeds in winter and harvesting the pods at the brown stage.

CHAPTER ONE

1. Introduction

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is the second most important pulse crop in the world after soybean (*Glysine max* L.), which is grown in many different parts of the world (Singh, 1997). It is grown across a wide range of environments, from the subtropics of India and Eastern and Southern Australia to Mediterranean-climate regions around the Mediterranean basin (West Asia and North Africa "WANA") (Siddique et al., 1999). Besides the importance of chickpeas for human food, it is considered an important animal feed where both carbohydrates and proteins constitute 80% of total seed dry weight, and contain appreciable amount of minerals and vitamins especially lysine, that is lacking in cereals (William and Singh, 1987).

Chickpea is a very important component of cropping systems of the dry, rainfed areas; because it can fix 80-120 kg N ha^{-1} through symbiotic nitrogen fixation with *Rhizobium* bacteria, thus increasing the input of combined nitrogen into the production system (Papastylanou, 1987; Saxena, 1988). Chickpeas are an important food legume in the Mediterranean region, since the crop origins, domestication, cultivation and usage, has evolved in the region with human civilization (Saxena, 1996). In cereal-dominated die of

South-West and East Asia and North Africa, chickpeas provide a high-quality protein, particularly for vegetarians and those who cannot afford meat.

There are two major groups of chickpeas; large seeded-line with light colored, ram-shaped seeds, abundant in the Mediterranean and called Kabuli and small seeded-line with dark colored and angular shaped which is dominated in East Asia and called Desi (Van der Maesen, 1972).

In Jordan, chickpea is the most cultivated food legume, and although the total cultivated area is about 6.4 thousand dunum and the average yield is 0.12 ton/dunum, the total production of the country is 768 tons (Department of Statistics, 2004). It is consumed as "Hummos Betehenia" (chickpeas paste), and sometimes it is harvested at full seed size stage and sold as "Hamleh". The importance of kabuli type chickpeas in human diet in WANA region is seen from the wide range of chickpeas-based snacks and food preparations that are prevalent throughout the region (Saxena, 1987b). Sandwiches made by stuffing flat bread with falafel (chickpeas balls) or homos are popular breakfasts or quick foods.

In the Mediterranean climate, chickpea is a rainfed pulse crop, which is sown in autumn or spring and grows during the cool, wet months of winter and spring (Leport et al., 1999). Winter-sown chickpeas (early November to late December) is exposed to relatively less favorable thermal conditions and better moisture regimes compared to spring-sown (mid February- early March) that grows on moisture conserved in soil from winter rains

(Saxena,1981). The winter-sown date increased seed yield by 50 to 100% compared with spring-sown date (Hawtin and Singh, 1984; Zaiter and Barakat, 1994). However, there are some constrains in winter-sown chickpeas that affect the quality and productivity of the crop, such as the incidences of *Ascochyta* blight (*Ascochyta rabiei*) fungal disease, which is encouraged by humid winter conditions, and remains the main biotic factor constraining the productivity of the crop (Keatinge and Cooper, 1983; Masadeh et al.,1996). Low temperatures and low radiation during the vegetative period are some additional constraining factors during winter. On the other hand, drought stress during the reproductive period of spring-sown chickpeas is considered as a constrain for late-sowing (Singh and Virmani, 1996). Thus, Jordanian's farmers delay sowing of chickpeas to avoid *Ascochyta* blight infections and avoid the exposure of spring-sown chickpea crops to late drought stress during the critical growth stage by planting seeds as early as possible (late Jan. to late Feb.).

Many reports described a potential breakthrough in increasing the productivity of chickpeas in the Mediterranean areas through a shift sowing date from the ones that are currently being practiced towards earlier winter dates (Saxena, 1980). The release of two new high-yielding cultivars of chickpea, Jubiha-2 and Jubiha-3,which are suitable for winter-sowing by cooperate between the Jordanian national program and ICARDA(International Center for Agricultural Research in Dry Areas), is

useful for rapid developments in chickpea cultivation in Jordan (Snobar et al., 1991).

The use of high quality seeds can be another important factor in increasing chickpeas production. High quality seeds are characterized by high genetic purity, cleaned, free from pest and diseases, morphologically are well developed, sufficiently dry, and meet the minimum germination standards (Harrington, 1971; Ware and Mccallum, 1975). High quality seeds have rapid and uniform emergence under a wide range of environmental conditions (Abu El-Gassim, 1988). According to Louwars (1996), seed quality can be evaluated by physiological, analytical and genetic characteristics. The physiological evaluation is related to seed germination and vigor.

Planting date and seed maturity at the time of harvest are two important factors affecting seed quality (TeKrony et al., 1984). Environmental conditions prevailing during seed filling period are highly associated with planting dates. Winter-sown plants have the advantage of reaching seed maturity and finish seed filling prior to the incident of severe terminal drought stress, and thus produce higher seed yield and quality. For many species, such as broad bean (*Vicia faba* L.), lentil (Ellis et al., 1987), and barley (*Hordeum vulgare* L.) (Pieta Filho and Ellis, 1991), seeds reach maximum physiological quality from germination point of view, when they were harvested at physiological maturity (defined as maximum accumulation of seed dry weight). In soybean, high seed vigour was attained at physiological maturity

(Mugnisjah and Nakamura, 1986; TeKrony et al., 1980). In wheat (*Triticum aestivum* L.), maximum seed germination was attained when the seeds were harvested long before physiological maturity, while maximum seed vigor was attained when the seeds were harvested at the seed physiological maturity (Rasyad et al., 1990). While the stage of seed maturity at which seeds gain maximum germination and vigor capabilities has been determined for other major crops, this stage is not determined for chickpea yet.

Assessing seed quality of chickpea sown on two dates and harvested at different pod developmental stages is useful for agronomists and farmers to know the best sowing date and time of harvest to obtain high seed quality of chickpeas. For physiologists, it is useful to now the developmental stage at which seeds are transferred from developmental phase to germinable phase and to assess when seeds gain the maximum capability to germinate. Also, it is useful to determine the best tests that can predict field establishment of chickpea. On the other hand, differences in nutrient concentration between two planting dates and nutrients accumulation among different developmental stages of the crop may have a main role in detecting crop quality from nutritional view.

Therefore, the objectives of this study were:

- To study the effect of planting date and maturity stages at harvest on the quality and nutritional accumulations in chickpea seeds.

- Determine the correlation coefficient between different quality tests to determine the best tests that must be used in predicting seeds vigorous status and its performance in the field.

CHAPTER TWO

2. Literature Review

2.1 Seed Quality

2.1.1 Importance of Seed Quality

Seed quality is a prerequisite to ensure good crop establishment and obtaining high grain yield (Moreno-Martinez et al., 1998). According to Funk et al. (1962), plants obtained from low quality seeds had slower seedlings emergence, less seedlings vigor, lower competitive ability, and were less productive than plants obtained from high quality seeds. In field crops, low quality seed was one of the main factors that resulted in low crop productivity by small farmers and was equally important to other factors such as fertilization, weed control and seedbed preparation (Trillo, 1994). Using high quality seeds may improve seedling establishment under adverse conditions (TeKrony and Egli, 1991). Seed germination and seed vigor are the main parameters used to evaluate seed quality (Al-Faqeeh, 1997).

2.1.1.1 Seed Standard Germination

Many definitions exist for seed germination. Physiologists consider seed germination as "the emergence of the radicle through the seed coat".

Seed analysts define seed germination as " the emergence and development from the seed embryo of those essential structures which, for the kind of seed in question, are indicative of the ability to produce a normal plant under favorable conditions" (AOSA,1981) (Association of Official Seed Analysts). According to ISTA (International Seed Testing Association) (1985) germination is "the emergence from the seed embryo and development of those essential structures, which indicate the ability of the seed type tested to develop into a normal plant under favorable conditions in the soil". From all these definitions, germination conditions not only have to be met to initiate seed growth, but also have to favor seedlings development in a limited period of time to give normal seedlings. Germination is expressed as the percentage of pure seed of a given type of seed that produces normal seedlings under optimal conditions (Van Geffen, 1986). Germination test determine and compare the quality of seed before it is planted, and these information can be used to determine the planting value of seeds and its storage potential (Copeland and McDonald, 1995).

2.1.1.2 Seed Vigor

Since standard germination test proved to be an improper measure for seed performance under unfavorable field conditions (Vieira et al., 1999), seed vigor tests have appeared to give a better prediction of field performance and more sensitive indicator of seed quality (Younis et al., 1990). Seed vigor

also affects plant regeneration; hence low vigor seeds reduce the yield if plant population is below the critical level (TeKrony and Egli 1991). Seed vigor can be defined as "those seed properties which determine the potential for rapid uniform emergence and development of normal seedlings under a wide range of field conditions" (AOSA, 1981). According to ISTA (1985) seed vigor defined as "the sum total of those properties of the seed which determine the potential level of performance and activity of a non-dormant seed or seed lot during germination and seedlings emergence".

There are several factors which affect seed vigor such as genetic make-up, mother plant nutrition, field weathering, time and method of harvesting, drying, processing, treating and storage (Harman and Stasz, 1986; Hallion, 1986; Adetunji, 1991; Castillo et al., 1994). We must understand that vigor is not like germination which is a single measurable property, but rather a quantitative character controlled by several factors that affect the germination seed or seedlings (Agrawal, 1986). In other words, seed vigor gives a better prediction of field performance and more sensitive indicator of seed quality than standard germination test (Younis et al., 1990). So vigor tests can not replace germination test, but rather supplement more informations about seed quality. The results of the seed germination and vigor are the most important attributes of seed quality (Moreno-Martinez et al., 1998). Hebblethwaite (1980) reported that to differentiate between high and low vigor seed lots of similar germination, seed vigor tests are complement to the results of standard

germination test. It has been reported that the germination and emergence tests would be valuable measures and technique in determining seed vigor (Fernandez and Johnson, 1995).

Performance of seeds in the field might be predicted by measuring seed germination and vigor (Al-Kofahi, 2003). Standard germination test remains the principle and most internationally accepted criterion of seed viability, because all external conditions can be controlled to give the most regular, rapid and complete germination for all samples (Al-Faqeeh, 1997). Standard germination remains the universally accepted index for determine the quality of marketed seeds (Barla-Szab and Dolinka, 1988).

Under favorable conditions, seed vigor tests do not improve the prediction of field performance over the standard germination test (Hebblethwaite, 1980). However, seed vigor is more correlated with field performance than standard germination under unfavorable conditions (Al-Faqeeh, 1997). Therefore, it is advantageous for farmers to know the vigor status of germinating seed lot before making any decision to buy seeds gives them the opportunity to indicate which seed lots are more likely to perform better under stressed sowing conditions (ISTA, 1995).

Single test does not necessarily measure all aspects of seed vigor (Hampton and Coolbear, 1990), so several tests should be used to predict seed performance in the field under unfavorable environmental conditions. Agrawal (1986) suggested that various vigor tests were proposed by different

workers, whom divided seed vigor tests into many categories according to type of test, such as electrical conductivity (EC) as a biochemical test, accelerated aging test and cold test as stress tests, and seedling growth rate as a performance test.

The highest vigor status occurs at physiological maturity (PM), which is defined by maximum accumulation of seed dry weight (Ram and Weisner, 1988) after which deterioration processes begins. Deterioration involves loss of membrane integrity, slower respiration, and more leakage of electrolytes and decreased enzyme activity, which may be reflected in slower germination percentages (Delouche and Baskin, 1973; Priestly and Leopold, 1979). Robert and Osei-Bonsu (1988) identified the symptoms of reduced seed vigor as a slower and more variable germination, a greater proportion of morphologically abnormal seedlings and a reduced emergence under stressed seedbed conditions. TeKrony and Egli (1991) reported that slow emergence and poor establishment are two main symptoms of low vigor seed.

2.2 Factors Affecting Seed Quality

There are many factors that may affect the quality of harvested seeds. Among these factors are seeding rates, tillage practices, planting date and seed maturity at harvest date (Adam et al., 1989). Seed maturity at harvest date is the most important from the point of view of seed quality and yield (McDonald, 1985; Verma and Chaurasia, 1994; Gurusamy, 1999). Maximum

seed quality in some crops is achieved towards the end of the filling period, when seeds reach maximum dry weight and have approximately 50-60% moisture content (TeKrony et al., 1979; Harrington, 1972) as in triticale (*Triticale hexploid* L.) (Bishnoi, 1974), soybean (TeKrony et al., 1980), broadbean lentil (Ellis et al., 1987) and barley (Pieta Filho and Ellis, 1991). At maximum dry weight (defined as seed physiologically maturity), seeds attains highest germination potential (Kaushik, 2003; Ellis et al., 1987) and a minimum EC of seed leachates (Gurusamy, 1999).

2.2.1 Planting Date

One possible cause of high vigor in early sowings is that plants experienced the highest total sunshine during the seed filling period. Greater photosynthesis might have created more food reserves, which might be responsible for high seed vigor (Siddique et al., 2002). However, the effect of planting date on yield and seed quality varies among crops. Castillo et al., (1993a) reported that late sowing date and the environmental conditions during seed development influenced the establishment of pea (*Pisum sativum* L.) by reducing seed vigor. The environmental conditions during seed development is a major determinant of seed quality (Delouche, 1980), particularly seed vigor (Castillo et al., 1994). In pea, high temperature during seed development increases the incidences of hollow heart (Halligan, 1986; Castillo et al., 1992), thereby lowering seed quality (Castillo et al., 1994).

Siddique et al. (2002) reported that late-sown had the lowest seed vigor compared with early-sown plants.

In chickpea, the yield and yield components of the harvested seeds have been studied by many researchers including; Keatinge and Cooper (1983), Saxena et al. (1990), Pala and Muzid (1992), who found that early winter sowings outyielded late winter-sowings by as much as 65%. Winter-sown chickpeas had 38% higher seed yield (Zaiter and Barakat, 1994). This winter-sowing permits better matching of the reproductive phase of the crop with optimum temperature and moisture regimes than that of spring-sowing. This can result in a 60-80% increase in yield and better water use efficiency (Saxena, 1987a). There was a linear increase in yield as the date of sowing was advanced from late spring to early spring, late winter to early winter. However, the success of early planting depends on the presence of high levels of tolerance to cold and resistance to *Ascochyta* blight in the chickpeas cultivars, because the winter-sown crop is more prone to these stresses than the spring-sown crop (Saxena, et al., 1996).

2.2.2 Harvesting Date

The stage at which plants are harvested affects its maximum quality and yield. Harvesting pulses early can substantially reduce yield losses and enhance seed quality (Cassells and Cuddick, 2000). Late harvest was responsible for low viability and vigor in legumes (TeKrony et al., 1980;

Mugnisjh and Nakamura, 1984). Harbison et al. (1986) reported that delayed harvest caused largest grain losses for many oil seeds and grain legumes. Also, excessive delay in harvest increases yield losses due to pod dehiscence and shatter in legumes (Ellis et al., 1988; Knight, 1993; Delouche, 1988). (Mugnisijah and Nakamura, 1986) reported that delayed harvest was responsible for low vigor of the produced seeds in soybean. Cassells and Caddick (2000) reported that late harvest of desi type chickpeas resulted in excessive yield losses due to pod drop and shattering. In chickpea, the effect of seed maturity on seed quality has not been studied yet.

2.3 Quality Parameters and Seedling Field Performance

Many studies have reported a strong correlation between seed germination and vigor tests one hand, and field emergence on the other hand. Field emergence was positively correlated with seed germination in wheat (Rasyad et al., 1990), in pea (Siddique, 2002), in lentil (Makkawi et al., 1999), and negatively correlated with electrical conductivity of seed leachate in soybean (Wang et al., 1994), and in pea (Hampton and Tekrony, 1995). The increase in EC means the increase in free sugars, free amino acids in seed leachates, and leakage of reserve materials from seeds, which reflect poor integrity of cell membranes, and weak emergence in the field (Gurusamy and Thiagarajan, 1998). Field emergence and final seedling stand was positively correlated with cold test in soybean (Johnson and Wax, 1978), onion (*Allium*

cepa L.), and sugar beet (*Beta vulgaris* L.) (Kraak et al., 1984). In Soybean (Adam et al., 1989), peanut (*Arachis hypogaea* L.) (Baskin, 1971), and chickpea (Ram et al., 1989), the standard germination and accelerated aging tests were best correlated with field emergence. The accelerated aging test, electrical conductivity test and seedling growth rate were correlated with field performance in soybean (Adam et al., 1989). Makkawi et al. (1999) reported that the standard germination test would be the most appropriate test for measuring seed vigor in lentil for planting and for comparing the performance of different seed lots under various planting conditions. The electrolytes lost from low vigor seeds with disorganized membranes result in higher conductivity readings compared to seeds of higher vigor (Hegarty, 1978; Fay et al., 1993). Many workers have suggested that damage to the membrane is important in seed vigor, so poor membrane structure is usually associated with deterioration and low seed vigor (Halmer and Bewely, 1984; Gurusamy and Thiagarajan, 1998).

It was found that seed vigor of corn (*Zea maize* L.) is commonly estimated by cold test in the laboratory, which simulates the adverse field prevailing during spring (Burris and Navratil, 1979). But cold test failed to predict field performance in lentil (Makkawi et al., 1999) and in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) (Swan et al., 1993). Singh et al. (1995) reported that the emergence of six pea cultivars was positively correlated with accelerated aging test. Also, it was found by Al-Kofahi (2003) that accelerated aging test

was useful to evaluate the quality of barley cultivars in Jordan. Ram et al., (1989) reported that the standard germination and accelerated aging tests were best correlated with field emergence and may be used to predict field emergence in chickpea. The electrical conductivity of seed leachates showed a negative and non-significant correlation with the standard germination percentage (Ram et al., 1989). Fernandez and Johnson (1995) reported that the germination and emergence tests would be valuable measures to estimate seed vigor since they correlated fairly well with bulk conductivity in chickpea by using Perry's conductivity test method (Perry, 1981) to measure the conductivity of seed leachates.

2.4 Nutritional Quality

Chickpea is a major food legume in developing countries, since it provides an exchangeable source of proteins, carbohydrates, minerals and vitamins, particularly for vegetarians and those who cannot afford meat. Chickpea is a very good source of carbohydrates and proteins, which together constitute about 80% of the total seed dry weight (Saxena and Singh, 1987). Total seed carbohydrates vary from 52.5 – 71% were the protein content of the seed varies from 17 – 24%, and based on amino acid composition, the proteins of chickpeas seed have higher nutritive value than other grain legumes (Gupta and Kapoor, 1980). Also, chickpea seed contains an appreciable amount of non-protein nitrogen and total seed nitrogen

(Khanvilkar and Desai, 1981), and provide a considerable amount of fat (3.8 – 10%). Chickpea also is a rich source of minerals, vitamins and contains appreciable amount of amino acids. According to Cowan et al. (1967) chickpea is a very good source of iron and a good source to providing calcium for low income people (Sankar Rao and Deosthale, 1981; Jambunathan and Singh, 1981). Chickpea is relatively rich in vitamins, especially vitamin C (ascorbic acid) (Chandra and Arora, 1968), and containing appreciable amount of important amino acid such as lysine, that is lacking in cereals (Sandhu et al., 1974).

From nutritional view point, an increase in the nutritional contribution of chickpea might result from an increase in crop productivity, high protein concentration or improvement in the quality. Mishra (1995) reported that the productivity of chickpea was associated with the traditional cultural practices, and this reflects the availability of nutrients in the crop. But it is noticeable that kabuli cultivars had the best grain quality, because of their lower thickness of seed coat (Koinov et al., 1976; El-Nour et al., 1978), so it is expected that there are appreciable amounts of nutrients in seed. On the other hand, the information on accumulation of Macro-nutrients and Micro-nutrients (trace elements) during the developmental stages and their concentrations at different planting dates in chickpea are sparse and need to be investigated.

2.5 Benefits of Such Information in Agriculture

Determining the stage of development at which chickpea seeds reach the highest seed viability and vigor is very useful to seed producers who want to harvest the crops early to reduce pod shattering and seed losses, while still maintaining high seed quality. Also they important for plant breeders who are interested in shortening generation time in a breeding program (Rasyad et al., 1990). Muasya et al., (2002) reported that such detailed knowledge of seed development and maturation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is important for assessing the appropriate date when the seed crop could be harvested with minimal loss of seed quality. Determining the stage at which seeds attained maximum quality in soybean was important because field deterioration and mechanical abuse during harvest can be minimized (McDonald, 1985). Date of planting has a major affect on crop field performance, because the environmental conditions to which various phenological stages of crop exposed are varies with planting date. In chickpea, this is very important since it is grown in dry areas on conserved soil moisture, where extreme temperature occurs during crop development, if chickpea was spring sown (Saxena and Singh, 1987). On the other hand, environmental conditions during crop growth and development, seed filling and maturation can affect seed size and seed vigor (Castillo et al., 1993b). The effect of planting chickpeas at the two dates (winter and spring) on the quality of the harvested seeds from a physiological view point was not studied yet.

CHAPTER THREE

3. Materials and Methods

3.1 Field Experiment

3.1.1 Location and Weather Conditions

This study was conducted under rainfed conditions during the 2003 and 2004 growing seasons at Maru Station for Agricultural Research's located in Northern Jordan at 34`N 40 °S with 90 m latitude. This location has a typical Mediterranean climate with 370 mm average annual rainfall. The total rainfall during 2003 growing season was 309.6 mm, and was during the 2004 growing season 354.2 mm (Department of Meteorology, 2005). Soil type at the location is silty clay with low level of organic matter 1.2 % and had a pH of 7.9.

3.1.2 Weather Data

In the 2003 growing season, maximum temperature was above 20°C from November to May except for December and January when it was around 13-14°C. Minimum temperature was below 10°C throughout the season, except for November and May when it was above 13°C. In 2004, maximum temperature was above 19°C for all months except for January and February,

whereas minimum temperature was less than 8°C except for May. In both growing seasons average maximum and minimum relative humidity increased from November to February, then it started to decrease. Total rainfall was higher in 2004 than in 2003. The highest amount of rainfall was reported in February in both growing seasons. The lowest amount of rainfall was reported in May in 2003 and in April in the 2004 growing season.

3.1.3 Agronomical Practices and Experimental Design

Chickpea variety "Jubiha-2" is characterized by its resistance to *Ascochyta* blight, tolerance to drought and high productivity (so it is suitable for winter-sown). Seeds were obtained from National Center for Agricultural Research and Technology Transfer (NCARTT), Jordan. A fertilized soil of (2 kg N, 5 kg P_2O_5 dunum^{-1}) was tilled once prior to planting using a chisel plow; the main plot size was 500 m^2 and the sub-plot was 125 m^2 for every planting date. Sowing has been done by hand planting on two dates, on 25th, 5th of December (winter-sown date) and on 5th, 10th of March (spring-sown date) in 2003 and 2004 growing seasons respectively. Pods were harvested at five developmental stages: 1) beginning of seed filling, 2) full-seed size, 3) greenish yellow pod, 4) yellow pod, and 5) brown pod. A description for these stages with date of harvest for each stage (and pod characteristics) is shown in Table 1. Plant height was measured for random sample of plants (10 plants) at each harvest stage. The harvested pods were transferred to the laboratory

Information is also not available about maturity stages of chickpeas at which crop attain its maximum quality.

Little information is also available about mineral nutrient in developing chickpea seeds. In other legume crop, there was an increase in nutrient accumulation during the early seed filling period in developing soybean seeds, but nutrients accumulated at a slower rate during the late seed filling period (Sale and Campbell, 1980). Although nutrient accumulation increased in developing seeds, but its accumulation on a dry weight basis decreased due to a growth dilution effect (Sale and Campbell, 1980). So it is important to understand the nutrients accumulation pattern at different seed developmental stages (content of these nutrients within seeds at each stage) and different planting dates in chickpea seeds.

The objectives of this experiment was to study the effect of two planting dates (winter and spring), and five maturity stages on the quality of the harvested seeds of chickpeas. Accumulations of mineral nutrients in seeds harvested at different developmental stages were also studied.

within an hour. Field experiments were arrangement in a split-plot in a completely randomized block design with 4 replications; the main sowing dates were assigned randomly to main plots and the maturity stages were randomly assigned to subplots.

Table 1. Summarization of sowing dates, harvest dates, and the maturity stages and pod description for chickpea plants grown in seasons 2003 and 2004.

Sowing Date	Harvests Date		Maturity Stage	Pod Description
	2003	2004		
Winter	29th April	6th May	**Beginning of seed filling (BS)**	Pods were dark green color; contain small, curled and greenish seeds.
Spring	6th May	12th May		
Winter	10th May	17th May	**Full-seed size (FS)**	Pods were dark green color, and seeds filled the whole pod cavity.
Spring	17th May	26th May		
Winter	21st May	24th May	**Greenish yellow pod (GY)**	Pods were yellowish green color, contain seeds that filled two third of the pod cavity.
Spring	25th May	1st June		
Winter	30th May	5th June	**Yellow pod (Y)**	Pods are yellow color, filled with yellow seeds.
Spring	4th June	9th June		
Winter	6th June	12th June	**Brown pod (B)**	Pods were brown color; contain dark yellow seeds that filled two third of the pod cavity.
Spring	11th June	14th June		

3.2 Laboratory Experiment

Pod length (mm), width (mm), and weight (mg pod^{-1}) were measured on a random sample of 10 pods from the harvested pods at each stage. Seed width, dry weight (mg $seed^{-1}$), and moisture content (g kg^{-1}), were measured for a random sample of 20 seeds at each harvest stage. Air-dried seeds were stored at 5°C until subjected to standard germination test and to seedling dry weight test, accelerated aging test, cold test, and electrical conductivity test. Seed nutrient analysis was done for seeds harvested at all five stages at National Center for Agricultural Research and Technology Transport (NCARTT) laboratories.

3.2.1 Moisture Content (MC)

Seed moisture content was measured as the difference between the weight of the seeds at harvest and the weight of seeds after oven-dry at 105°C for 72 hr and expressed as a percentage. Copeland and McDonald (1995) calculated seed moisture content using the following formula:

$$\text{Seed Moisture Content} = \frac{\text{Initial Weight (g)} - \text{Oven Dry Weight (g)}}{\text{Initial Weight (g)}} \times 100$$

3.2.2 Standard Germination Test (SGT)

Standard germination test was conducted for fresh (before drying) and air-dried seeds according to Association of Official Seed Analysts (1983).

Four replications of 30 seeds were placed between moistened folded germination papers in 11x 4x 4 cm plastic container and kept at 20°C in an incubator for 10 days. At the end of the test period (10 days), number of normal seedlings was evaluated according to seed testing rules (AOSA, 1983).

3.2.3 Seedling Dry Weight (SLDW)

Seedling dry weight was assessed after the final count in the standard germination test (10 days). Cotyledons were hand-separated from normal seedlings, and the weight of these normal seedlings was recorded after over-drying at 80°C for 24 hours and the mean seedling dry weight was expressed at mg $seedling^{-1}$.

3.2.4 Accelerated Aging Test (AA)

Accelerated aging test was conducted for air-dried seeds according to Association of Official Seed Analysts (1983). Four replications of 25 seeds were suspended over a wire mesh in 11x 4x 4 cm containers filled with 40 ml distilled water. The containers were incubated at 40°C for 4 days; then seeds removed and planted under optimum germination conditions as described in the standard germination test, and seedling evaluation was done according to seed testing rules (AOSA, 1983).

3.2.5 Cold Test

Cold test was conducted as described in Association of Official Seed Analysts (1983). A screened non-sterile mixture of field soil, peatmoos and perlite in the ratio of 2:1:1 (V/V) respectively was used as a medium in cold test. The moisture content and the water-holding capacity of the mixture were calculated to determine the amount of water needed to bring the soil mixture to 70% of water holding capacity. Four replications of 25 seeds were placed on top of 5 cm well-leveled soil mixture and covered with an additional 5 cm of soil mixture. The containers were kept at 10°C for 4 days then, were transferred to a germination chamber maintained at 20°C for 10 days. At the end of the test (14 days), numbers of normal seedlings were counted as described in seed testing rules (AOSA, 1983).

3.2.6 Electrical Conductivity Test (EC)

Electrical conductivity test was conducted as described in Association of Official Seed Analysts (1983), using 4 replications of 25 seeds per replicate. The seeds were weighed and soaked in 75 ml of de-ionized water for 24 hr at 25°C, then, were removed and the electrical conductivity of seed leachate was determined in $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ of dry seed using an electrical conductivity meter.

3.3 Statistical Analysis

Collected data were subjected to analysis of variance (ANOVA) using SAS program. Probability of significance was used to indicate significant treatments and interactions effects. Means were separated according to the Fisher's least significant difference (LSD) at 0.05 levels of probability.

CHAPTER FOUR

4. Results

4.1 Agronomical Characteristics

4.1.1 Plant Height

Maximum height was achieved when seeds were harvested at the B stage in the two growing seasons. Planting date had no effect on plant height at any harvest date except for seed harvested at GY stage in 2004 (Table 2).

4.1.2 Pod and Seed Characteristics

In both growing seasons and planting dates, maximum pod fresh weight, length, and width and seed width were achieved when seeds were harvested at the FS stage (Table 3). The attainment of maximum seed fresh weight was not consistent in both planting dates and growing seasons. As seed matured, there was an increase in seed dry weight and a decrease in seed moisture content (Figure 1). Seeds attained maximum dry weight at the Y stage of development.

The spring-sown plants had significantly higher seed dry weight than that in winter-sown plants at the FS, GY, and Y stages in 2003 and at GY

stage in 2004 growing season. Seed moisture content was high at the BS stage then started to decrease progressively. Generally, seeds from winter-sown plants had significantly higher moisture content than seeds from spring-sown plants.

Table 2. Effect of planting dates and maturity stages on chickpea plant height in 2003 and 2004 growing seasons.

Planting Date	Maturity Stage	Plant Height	
		2003	2004
		cm	
Winter	BS	34.25	34.50
	FS	44.00	45.75
	GY	47.50	47.25
	Y	46.50	45.50
	B	49.25	50.25
Spring	BS	31.25	27.00
	FS	40.25	39.00
	GY	41.00	41.00
	Y	45.00	46.75
	B	48.25	51.00
Main effect	Winter	44.30	44.65
	Spring	41.15	40.95
	BS	32.75	30.75
	FS	42.12	42.37
	GY	44.25	44.12
	Y	45.75	46.12
	B	48.75	50.62
	LSD[1]	**ns †**	**6.247**
	LSD[2]	**ns**	**2.021**
	LSD[3]	**5.066**	**4.418**

LSD[1]:Fisher's Least Significant Difference for comparing the interaction effect of planting date and maturity stage.
LSD[2]:Fisher's Least Significant Difference for comparing planting date.
LSD[3]:Fisher's Least Significant Difference for comparing maturity stage.
† ns: non-significant in ANOVA.

Table 3. Effect of planting dates and maturity stages on chickpea pods and seeds characteristics in two growing seasons.

Planting Date	Maturity Stage	Pod Characteristics						Seed Characteristics			
		Fresh Weight		Length		Width		Fresh Weight		Width	
		2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004
		mg pod^{-1}		mm		mm		mg seed^{-1}		mm	
Winter	BS	415.50	389.97	18.75	18.50	9.50	10.75	50.25	61.63	2.00	2.25
	FS	956.92	1186.4	26.00	23.75	14.50	12.75	664.75	705.8	9.00	9.25
	GY	754.95	897.70	22.75	21.75	14.25	12.50	666.75	642.1	8.50	8.25
	Y	835.75	822.92	24.00	23.50	12.50	12.50	511.37	651.1	7.50	7.50
	B	517.25	446.47	21.25	21.25	11.00	11.25	503.62	354.1	6.50	6.25
Spring	BS	352.50	536.22	16.50	20.50	8.00	11.00	53.50	71.10	2.25	1.50
	FS	1111.0	893.22	20.25	2400	12.50	12.50	748.87	643.7	7.75	7.75
	GY	1032.5	943.07	22.00	24.00	12.75	12.25	656.12	714.4	5 75	8.25
	Y	465.75	961.32	21.25	23.75	11.50	12.50	615.75	654.3	7.25	6.50
	B	489.00	501.85	19.50	21.25	10.25	10.75	377.00	369.3	7.00	6.00
Main effect	Winter	696.07	748.69	22.55	21.60	12.05	11.75	471.34	482.94	6.70	6.70
	Spring	690.15	767.13	19.50	22.30	10.80	11.70	490.24	490.56	6.00	6.00
	BS	384.00	463.09	17.62	19.50	8.75	10.87	51.87	66.36	2.12	1.87
	FS	1033.9	1039.8	23.12	23.87	13.50	12.62	706.81	674.75	8.37	8.50
	GY	893.72	920.38	22.37	22.87	13.50	12.37	661.43	678.25	7.12	8.25
	Y	650.75	892.12	22.62	23.62	12.00	12.50	563.56	652.70	7.37	7.00
	B	503.12	474.16	20.37	21.25	10.62	11.00	440.31	361.70	6.75	6.12
	LSD[1]	**ns†**	**85.870**	**ns**	**ns**	**ns**	**1.817**	**59.400**	**42.910**	**ns**	**ns**
	LSD[2]	**ns**	**ns**	**1.769**	**ns**	**ns**	**0.705**	**ns**	**ns**	**0.989**	**0.989**
	LSD[3]	**250.38**	**60.716**	**1.713**	**1.527**	**0.953**	**1.284**	**41.587**	**30.340**	**0.908**	**ns**

LSD[1]: Fisher's Least Significant Difference for comparing the interaction effect of planting date and maturity stage.
LSD[2]: Fisher's Least Significant Difference for comparing planting date.
LSD[3]: Fisher's Least Significant Difference for comparing maturity stage.
† ns: non-significant in ANOVA.

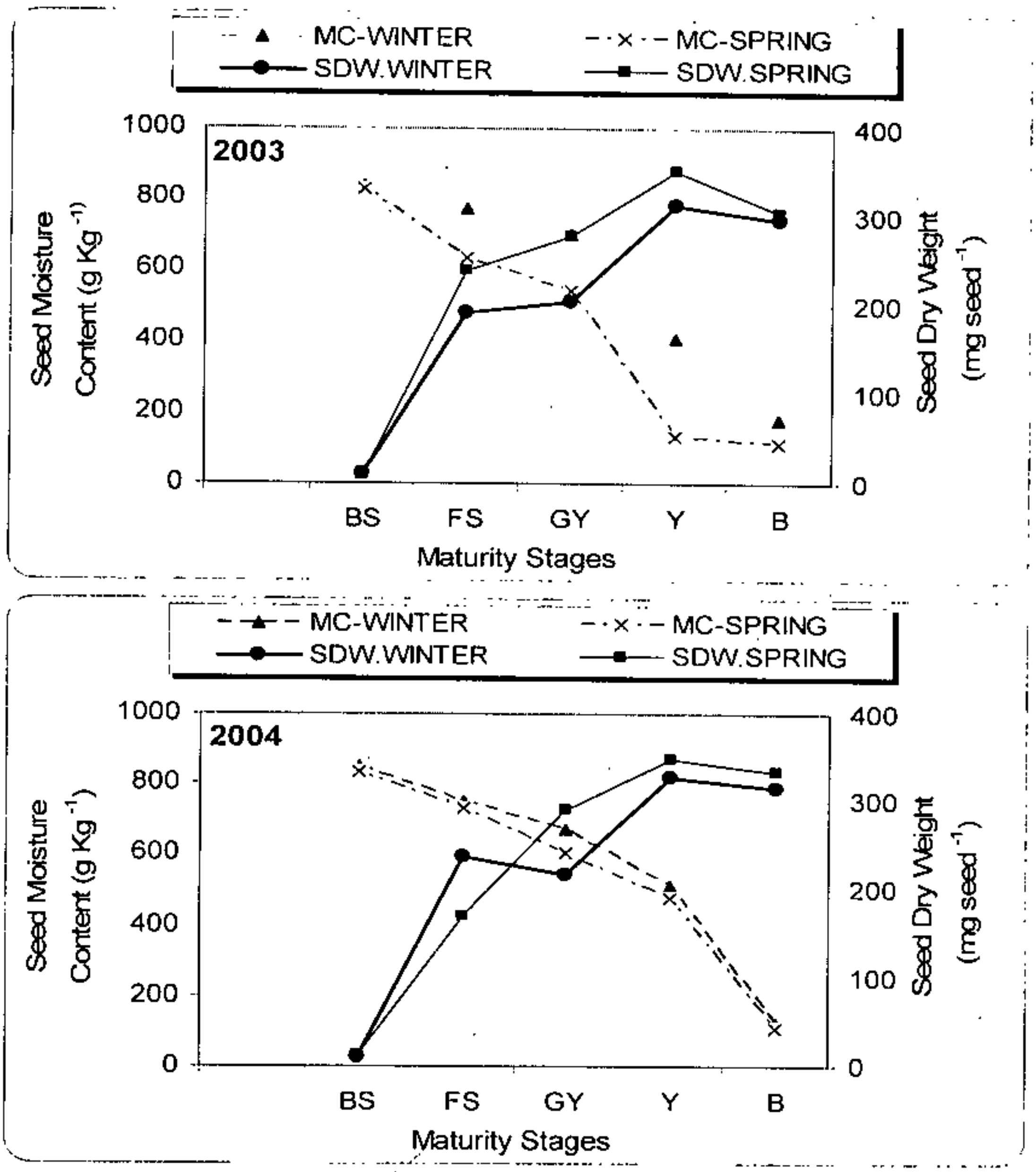


Figure 1. Seed dry weight (SDW) and moisture content (MC) of chickpea during seed development for two planting dates in the 2003 and 2004 growing seasons.

4.2 Laboratory Experiments

4.2.1 Standard Germination Test

The highest germination percentage of fresh seeds was achieved when harvesting was done at the Y stage in 2003 growing season and the B stage in 2004 growing season. In both growing seasons and planting date, the highest germination for air-dried seeds was achieved at the B stage (Table 4).

4.2.2 Seed Vigor Tests

4.2.2.1 Seedling Dry Weight (SLDW)

In both growing seasons and planting dates, there were significant differences in seedling dry weight (SLDW) among maturity stages. As seed matured, seedling dry weight increased (Table 5). In 2003 growing season, seedling dry weight of seeds harvested at the FS, GY, Y, and B stages in winter-sown plants was higher than that of spring-sown plants. In 2004 growing season, the seeds in winter-sown plants had higher seedling dry weight than that of spring-sown plants.

4.2.2.2 Accelerated Aging Test

In both growing seasons, the germination percentages after accelerated aging test (AA) increased as seed matured (Table 6). The seeds harvested at the BS, FS, and GY stages had lower AA germination than those harvested at the Y and B stages. In winter-sown plants, there was no difference in AA

Table 4. Effect of planting dates and maturity stages on seed quality as determined by the percentage of normal seedling in the standard germination test for fresh and air-dried seeds of chickpeas in 2003 and 2004 growing seasons.

Planting Date	Maturity Stage	Fresh Germination		Air-dried Germination	
		2003	**2004**	**2003**	**2004**
		----------	---------- %	----------	----------
Winter	BS	0.00	0.00	0.00	0.00
	FS	34.16	25.00	40.00	28.33
	GY	58.33	40.00	60.83	52.50
	Y	90.00	76.66	86.66	80.00
	B	72.50	92.50	96.66	96.66
Spring	BS	0.00	0.00	0.00	0.00
	FS	35.00	22.50	40.00	25.83
	GY	59.16	46.66	60.00	55.00
	Y	81.66	87.50	85.83	88.33
	B	69.16	97.50	88.33	97.50
Main effect	Winter	50.99	46.83	56.83	51.49
	Spring	48.99	50.83	54.83	53.32
	BS	0.00	0.00	0.00	0.00
	FS	34.58	23.75	40.00	27.08
	GY	58.74	43.33	60.41	53.75
	Y	85.83	82.08	86.24	84.16
	B	74.50	95.00	92.49	97.08
	LSD[1]	**ns†**	**5.661**	**3.352**	**5.014**
	LSD[2]	**ns**	**ns**	**ns**	**ns**
	LSD[3]	**4.189**	**4.002**	**2.370**	**3.545**

LSD[1]:Fisher's Least Significant Difference for comparing the interaction effect of planting date and maturity stage.
LSD[2]:Fisher's Least Significant Difference for comparing planting date.
LSD[3]:Fisher's Least Significant Difference for comparing maturity stage.
† ns: non-significant in ANOVA.

Table 5. Effect of planting dates and maturity stages on chickpeas seed quality as determined by seedling dry weight in two growing seasons 2003 and 2004.

Planting Date	Maturity Stage	Seedling Dry Weight	
		2003	**2004**
		mg seedling^{-1}	
Winter	BS	0.00	0.00
	FS	11.31	10.73
	GY	18.77	16.23
	Y	31.37	27.16
	B	37.37	35.41
Spring	BS	0.00	0.00
	FS	7.12	9.91
	GY	14.01	13.68
	Y	24.81	23.77
	B	30.49	29.27
Main effect	Winter	19.76	17.90
	Spring	15.28	15.32
	BS	0.00	0.00
	FS	9.21	10.32
	GY	16.39	14.95
	Y	28.09	25.46
	B	33.93	32.34
	LSD[1]	**2.194**	**ns†**
	LSD[2]	**1.366**	**1.702**
	LSD[3]	**1.551**	**2.778**

LSD[1]:Fisher's Least Significant Difference for comparing the interaction effect of planting date and maturity stage.
LSD[2]:Fisher's Least Significant Difference for comparing planting date.
LSD[3]:Fisher's Least Significant Difference for comparing maturity stage.
† ns: non-significant in ANOVA.

Table 6. Effect of planting dates and maturity stages on chickpeas seed quality as determined by accelerated aging test in two growing seasons 2003 and 2004.

Planting Date	Maturity Stage	Accelerated Aging Test	
		2003	2004
		%	
Winter	BS	0.00	0.00
	FS	2.00	2.00
	GY	9.00	8.00
	Y	86.00	76.00
	B	90.00	81.00
Spring	BS	0.00	0.00
	FS	0.00	0.00
	GY	19.00	15.00
	Y	67.00	68.00
	B	88.00	83.00
Main effect	Winter	37.40	33.4
	Spring	34.80	33.20
	BS	0.00	0.00
	FS	1.00	1.00
	GY	14.00	11.50
	Y	76.50	72.00
	B	89.00	82.00
	LSD[1]	5.825	5.702
	LSD[2]	ns†	ns
	LSD[3]	4.271	4.032

LSD[1]:Fisher's Least Significant Difference for comparing the interaction effect of planting date and maturity stage.
LSD[2]:Fisher's Least Significant Difference for comparing planting date.
LSD[3]:Fisher's Least Significant Difference for comparing maturity stage.
† ns: non-significant in ANOVA.

germination between seed harvested at the Y and B stages. In spring-sown plants, seeds harvested at the B stage had higher AA germination than the Y stage. The results of AA test suggest that the seeds harvested at the GY stage had lower quality compared with the seeds harvested at the Y and B stages in both growing seasons and planting dates. The seeds harvested at the Y stage in the spring-sown plants had lower AA germination than those harvested at the B stage.

4.2.2.3 Cold Test

Seeds harvested at the BS, FS, and GY had lower cold germination than those harvested at the Y and B stages (Table 7). There was no significant difference in cold germination between seeds harvested at the Y and B stage in 2003, but the difference was significant in 2004 growing season.

4.2.2.4 Electrical Conductivity Test

In both growing seasons and planting dates, the electrical conductivity (EC) of seed leachate decreased as the seeds matured (Table 8). The lowest electrical conductivity value was reported at the Y and B stages. Seeds harvested at the BS, FS, and GY stages were different in EC values, whereas seeds harvested at the Y and B stages were not. The minimum electrical conductivity values were attained at later stages (Y and B) at both sowing dates. The results of EC values suggest that there was no difference in seed

Table 7. Effect of planting dates and maturity stages on chickpeas seed quality as determined by cold test in two growing seasons 2003 and 2004.

Planting Date	Maturity Stage	Cold Test	
		2003	2004
		------------------%------------------	
Winter	BS	0.00	0.00
	FS	24.50	24.50
	GY	66.00	62.00
	Y	88.00	78.00
	B	91.00	84.00
Spring	BS	0.00	0.00
	FS	23.50	21.75
	GY	72.00	63.00
	Y	86.00	80.00
	B	88.00	87.00
Main effect	Winter	53.90	49.70
	Spring	53.90	50.35
	BS	0.00	0.00
	FS	24.00	23.12
	GY	69.00	62.50
	Y	87.00	79.00
	B	89.50	85.50
	LSD[1]	3.778	ns
	LSD[2]	ns†	ns
	LSD[3]	2.671	3.818

LSD[1]:Fisher's Least Significant Difference for comparing the interaction effect of planting date and maturity stage.
LSD[2]:Fisher's Least Significant Difference for comparing planting date.
LSD[3]:Fisher's Least Significant Difference for comparing maturity stage.
† ns: non-significant in ANOVA.

Table 8. Effect of planting dates and maturity stages on chickpeas seed quality as determined by electrical conductivity test in two growing seasons 2003 and 2004.

Planting Date	Maturity Stage	Electrical Conductivity Test	
		2003	2004
		µmhos cm⁻¹ g⁻¹	
Winter	BS	1144.4	1003.1
	FS	444.95	639.21
	GY	221.83	431.57
	Y	92.65	105.64
	B	87.26	90.52
Spring	BS	1171.5	1073.9
	FS	359.65	591.00
	GY	143.73	180.39
	Y	81.40	62.25
	B	83.37	55.13
Main effect	Winter	398.21	454.00
	Spring	367.93	392.53
	BS	1157.95	1038.5
	FS	402.30	615.10
	GY	182.78	305.98
	Y	87.02	83.94
	B	85.31	72.82
	LSD[1]	**ns†**	**94.060**
	LSD[2]	**ns**	**ns**
	LSD[3]	**51.567**	**66.513**

LSD[1]:Fisher's Least Significant Difference for comparing the interaction effect of planting date and maturity stage.
LSD[2]:Fisher's Least Significant Difference for comparing planting date.
LSD[3]:Fisher's Least Significant Difference for comparing maturity stage.
† ns: non-significant in ANOVA.

quality between the seeds harvested at the Y and B stages, so EC test failed to differentiate between these two stages as a vigor test.

4.3 Simple Correlation coefficient between seed quality tests...

Simple correlation coefficients among germination test and vigor tests indicated that these tests were correlated with each other in both growing seasons (Table 9). The standard germination test (SGT) showed a significant positive correlation with each of seedling dry weight (SDW), cold test (CT), and accelerated aging test (AA) in both growing seasons, also it had a negative correlation with electrical conductivity test (EC) of seed leachates in both growing seasons.

The results of seedling dry weight indicated that there was a negatively and significant association with EC test in 2004 growing season, whereas in 2003 growing season it was less associated.

Accelerated aging test showed a significant positive correlation with seedling dry weight, and negative correlation with electrical conductivity test in 2004 growing season comparing with 2003 growing season, where it was less positive correlated with seedling dry weight and less negative correlated with electrical conductivity test. Cold test had a positively and significant association with seedling dry weight, but it was less correlated with accelerated aging test, and had a negative association with electrical conductivity test in 2004 growing season only.

Table 9. Simple correlation coefficients between standard germination test and different vigor tests of chickpeas in two growing seasons 2003 and 2004.

	SGT		SLDW		AA		CT		EC	
	2003	**2004**	**2003**	**2004**	**2003**	**2004**	**2003**	**2004**	**2003**	**2004**
SGT	1.000	1.000								
SLDW	0.964**	0.976***	1.000	1.000						
AA	0.855	0.915***	0.911*	0.916***	1.000	1.000				
CT	0.951*	0.934***	0.961**	0.904***	0.855	0.811**	1.000	1.000		
EC	-0.936*	-0.963***	-0.824	-0.922***	-0.635	-0.817**	-0.829	-0.921***	1.000	1.000

***, **, *** indicate significant at $P \leq 0.05$, 0.01, and 0.001 respectively.**
SGT: Standard Germination Test, SLDW: Seedling Dry Weight, AA: Accelerated Aging test, CT: Cold Test, EC: Electrical Conductivity test.

4.4 Mineral Nutrient Analysis

4.4.1 Mineral Nutrient Concentration

In both growing seasons and planting dates, seed minerals concentrations tended to decrease as seeds matured (Tables 10 and 11).

4.4.1.1 Macro-Nutrients

Planting date had a significant effect on seed macro-nutrients concentrations (Table 10). Nitrogen (N) concentration in seeds from spring-sown plants was significantly higher than those seeds from winter-sown plants in 2003 growing season, but the difference was not significant in 2004 growing season. The effect of planting dates on phosphorus (P) concentration in seed was not consistent between growing seasons. In 2003 growing season, seeds from spring-sown plants had higher phosphorus concentration than winter-sown plants. In 2004 growing season, seeds harvested at the BS stage had higher phosphorus concentration in spring-sown plants than winter-sown plants, whereas seeds harvested at the FS, GY, Y, and B stages had lower phosphorus concentration in spring-sown plants than in winter-sown plants. For potassium (K) concentration, seeds were not significantly differing among stages in both growing seasons. Seed calcium (Ca) concentrations were lower in spring-sown than in winter-sown plants in 2004 growing season, but the difference was not significant in 2003 growing season. The differences in magnesium (Mg) concentration were not significant between planting dates in both growing seasons.

Table 11. Concentration of Micro-nutrient mineral in chickpea seeds harvested at five stages for plants grown in two planting dates in 2003 and 2004 growing seasons.

Planting Date	Maturity Stage	Fe		Zn		Mn		Co
		2003	2004	2003	2004	2003	2004	2004
		----------	----------	---------- μg g^{-1}	seed dry weight ----------	----------	----------	----------
Winter	BS	97.44	121.44	49.87	45.70	31.77	38.02	13.70
	FS	63.36	83.08	43.58	45.38	39.97	42.82	10.69
	GY	46.98	85.17	40.28	42.34	35.61	35.16	14.32
	Y	47.69	7.09	45.79	40.88	35.55	27.93	13.40
	B	45.52	3.29	41.03	43.79	33.25	30.65	12.13
Spring	BS	77.14	45.95	51.94	48.05	37.42	42.33	14.02
	FS	48.19	13.82	40.34	42.01	37.47	45.22	16.44
	GY	40.09	10.61	40.12	42.81	35.58	39.45	18.89
	Y	47.48	12.25	40.40	42.71	31.95	33.24	15.53
	B	42.98	7.57	37.83	42.89	33.34	34.63	13.82
Main effect	Winter	60.20	60.00	44.11	43.62	35.23	34.92	12.85
	Spring	51.18	18.04	42.13	43.69	35.15	38.97	15.74
	BS	87.29	83.68	50.91	46.88	34.59	40.18	13.86
	FS	55.78	48.45	41.96	43.69	38.72	44.02	13.57
	GY	47.25	47.89	40.20	42.58	35.59	37.31	16.61
	Y	45.35	9.67	43.09	41.79	33.75	30.59	14.47
	B	42.81	5.43	39.43	43.35	33.29	32.64	12.98
	LSD[1]	**5.715**	**6.628**	**ns†**	**1.989**	**ns**	**ns**	**ns**
	LSD[2]	**4.267**	**4.665**	**ns**	**ns**	**ns**	**2.339**	**0.973**
	LSD[3]	**4.041**	**4.687**	**3.392**	**1.406**	**3.184**	**2.005**	**ns**

LSD[1]: Fisher's Least Significant Difference for comparing the interaction effect of planting date and maturity stage.
LSD[2]: Fisher's Least Significant Difference for comparing planting date.
LSD[3]: Fisher's Least Significant Difference for comparing maturity stage.
† ns: non-significant in ANOVA.

4.4.2 Minerals Nutrients Content per Seed

In both growing seasons and planting dates, seed mineral content tended to increase as the seed matured (Table 12 and 13).

4.4.2.1 Macro-Nutrients

Planting date had a significant effect on seed macro-nutrients accumulation. In 2003 growing season, nitrogen (N) content was significantly higher in seeds harvested from spring-sown plants than those seeds of winter-sown plants (Table 12). In 2004 growing season, planting date had no significant effect on seed N content. The effect of planting dates on phosphorus (P) content in seed was not consistent between growing seasons. In 2003 growing season, planting date had no effect on P content. In 2004 growing season, seeds harvested at the Y and B stages had higher P content in winter-sown plants than spring-sown plants, whereas seeds harvested at the BS, FS, and GY stages had similar P content in both planting dates. Planting date had no effect on K content. (Ca) content was lower in seeds harvested at Y and B stages from spring-sown plants than in winter-sown plants in 2003 growing season, whereas in 2004 growing season, planting date had no effect on Ca content. The differences in magnesium (Mg) content were not consistent between planting dates in the two growing seasons.

Table 12. Content of Macro-nutrient mineral within chickpea seeds harvested at five stages for plants grown in two planting dates in 2003 and 2004 growing seasons.

Planting Date	Maturity Stage	N		P		K		Ca		Mg	
		2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004
		mg seed^{-1}									
Winter	BS	0.679	0.541	0.115	0.075	0.438	0.224	0.037	0.561	0.028	0.037
	FS	3.503	3.572	0.550	0.461	1.844	1.191	0.220	3.365	0.185	0.209
	GY	5.663	5.633	0.876	0.725	2.487	1.806	0.355	5.053	0.305	0.332
	Y	7.692	8.624	1.270	0.992	3.695	2.289	0.535	7.670	0.443	0.450
	B	8.592	9.233	1.329	1.249	3.751	2.804	0.576	8.224	0.450	0.534
Spring	BS	0.941	0.815	0.157	0.103	0.597	0.289	0.047	0.579	0.039	0.044
	FS	4.808	4.642	0.652	0.499	1.983	1.601	0.214	3.340	0.183	0.256
	GY	7.504	7.403	1.105	0.706	2.636	1.862	0.338	5.393	0.322	0.412
	Y	8.481	7.998	1.217	0.786	3.297	2.091	0.422	6.038	0.383	0.438
	B	11.06	9.330	1.418	1.127	3.406	2.420	0.525	7.464	0.462	0.576
Main effect	Winter	5.226	5.521	0.828	0.701	2.443	1.663	0.345	4.975	0.282	0.312
	Spring	6.559	6.038	0.909	0.644	2.384	1.653	0.309	4.563	0.278	0.345
	BS	0.810	0.678	0.136	0.089	0.518	0.256	0.042	0.570	0.034	0.041
	FS	4.155	4.107	0.601	0.480	1.914	1.396	0.217	3.353	0.184	0.233
	GY	6.584	6.518	0.991	0.715	2.562	1.834	0.347	5.223	0.314	0.372
	Y	8.087	8.311	1.244	0.889	3.496	2.190	0.479	6.854	0.413	0.444
	B	9.826	9.282	1.374	1.188	3.579	2.612	0.551	7.844	0.456	0.555
	LSD[1]	**0.678**	**0.825**	**0.065**	**0.046**	**0.201**	**0.065**	**0.046**	**0.617**	**0.014**	**0.014**
	LSD[2]	**0.736**	**ns†**	**ns**	**0.029**	**ns**	**ns**	**0.033**	**ns**	**ns**	**0.018**
	LSD[3]	**0.479**	**0.583**	**0.048**	**0.024**	**0.143**	**0.147**	**0.025**	**0.436**	**0.018**	**0.014**

LSD[1]: Fisher's Least Significant Difference for comparing the interaction effect of planting date and maturity stage.
LSD[2]: Fisher's Least Significant Difference for comparing planting date.
LSD[3]: Fisher's Least Significant Difference for comparing maturity stage.
† ns: non-significant in ANOVA.

4.4.2.2 Micro-Nutrients (Trace Elements)

In 2003 growing season, seeds from spring-sown plants had lower Fe content than winter-sown plants. In 2004 growing season, seeds harvested at the BS, FS and GY stages were not significantly different between planting dates in Fe content (Table 13). For seeds harvested at Y and B stages, Fe content was significantly lower in spring-sown plants than winter-sown plants. Planting date had no effect on Zn content in both growing seasons. Similarly, planting date had no effect Mn content in 2003 growing season, but in 2004 growing season seeds harvested at FS and GY stages had higher Mn content in spring-sown plants than those from winter-sown plants. For Co content, only seeds harvested at FS and GY stages had higher content in spring-sown plants than winter-sown plants.

Table 13. Content of Micro-nutrient mineral within chickpea seeds harvested at five stages for plants grown in two planting dates in 2003 and 2004 growing seasons.

Planting Date	Maturity Stage	Fe		Zn		Mn		Co
		2003	2004	2003	2004	2003	2004	2004
		----------	----------	----------	-µg seed^{-1}-	----------	----------	----------
Winter	BS	15.44	10.62	7.90	7.24	5.04	6.02	2.22
	FS	72.76	19.24	50.05	52.12	44.75	49.17	14.64
	GY	93.69	21.02	80.31	84.43	71.01	70.11	28.51
	Y	141.33	95.41	135.73	121.16	105.36	82.79	39.70
	B	146.61	169.8	132.14	141.06	107.08	98.73	39.11
Spring	BS	16.15	9.62	10.88	10.06	7.84	8.86	2.92
	FS	64.19	14.12	53.73	55.95	49.91	60.22	21.91
	GY	90.68	17.12	90.74	96.83	81.10	89.23	42.74
	Y	125.55	32.38	106.80	112.93	84.47	87.88	41.10
	B	136.89	44.02	120.47	136.57	106.17	110.27	43.90
Main effect	Winter	94.02	63.22	81.24	81.22	66.67	61.36	24.82
	Spring	86.72	23.44	76.54	82.46	65.91	71.28	30.53
	BS	15.80	10.10	9.40	8.65	6.44	7.45	2.55
	FS	68.50	14.45	51.91	54 03	47.35	54.74	18.25
	GY	92.21	19.05	85.32	90.64	76.05	79.65	35.62
	Y	133.60	63.90	121.25	117.04	94.95	85.38	40.41
	B	141.72	106.91	126.4	138.82	106.65	104.45	41.54
	LSD^1	**ns†**	**9.626**	**9.872**	**3.987**	**9.674**	**6.150**	**6.062**
	LSD^2	**3.522**	**7.859**	**ns**	**ns**	**ns**	**3.927**	**3.635**
	LSD^3	**6.404**	**6.806**	**6.980**	**2.819**	**6.840**	**4.348**	**4.179**

LSD^1:Fisher's Least Significant Difference for comparing the interaction effect of planting date and maturity stage.
LSD^2:Fisher's Least Significant Difference for comparing planting date.
LSD^3:Fisher's Least Significant Difference for comparing maturity stag.
† ns: non-significant in ANOVA.

CHAPTER FIVE

5. Discussion

5.1 Seed Quality Tests during Development

Maximum pod fresh weight, length, width, seed fresh weight and width were attained at the FS stage. Maximum seed dry weight was attained at the Y stage (the physiological maturity PM). These results indicated that chickpeas reached the physiological maturity when pod turned yellow. These results were in agreement with the findings of Samarah et al. (2004) and Miles et al. (1988) on other leguminous crops. Also, seed moisture content was high at BS stage then started to decrease progressively. Planting date had no consistent effect on plant height, pod and seed characteristics in both growing seasons. Saxena and Singh (1987) reported that pod size characteristics such as length, thickness, and width were little influenced by environmental changes and were not significantly affected by other factors such as locations and planting dates. In present study, planting date significantly decreased plant height in 2004 growing season, but the decrease was not significant in 2003 growing season. The decrease in plant height in this study was in agreement with the finding of Eshel (1967), who found that delayed seeding of chickpea resulted in a reduction in the height of the growing plants. The

results of the germination of the fresh and air-dried seeds showed that immature seeds had low germination, and the germination capability of chickpeas increased as the seed matured, reaching the maximum levels at the B stage in both growing seasons and planting dates. Drying may cause a turn in the seeds from developmental to germination mode, either affecting the amount of abscisic acid (ABA) in the seed, or altering the sensitivity of the embryo to the abscisic acid (Kermode et al., 1986). Adam et al. (1989) suggested that allowing the immature seeds to desiccate slowly, maturation events were permitted to occur after immature seeds were removed from the parent plant. In common vetch, maximum seed germination was attained when seeds were harvested slightly before seeds physiological maturity (at the greenish yellow pod stage) (Samarah et al., 2004). Miles et al. (1988) found that maximum germination of soybean was attained at the physiological maturity (the Y stage). Other researchers found that maximum seed germination was attained when seeds were harvested long before physiological maturity, such as in muskmelon (Harrington, 1959), and cucumber (Bowers, 1958).

The attainment of chickpea maximum germination capability at the B stage (after physiological maturity) in the present study was in agreement with the findings of other researchers in some crops such as in canola (Elias and Copeland, 2001), barley (Pieta Filho and Ellis, 1991), and in lentil (Ellis et al. 1987), who reported that maximum germination was attained after the

seed physiological maturity. Muasya et al. (2002) reported that seed development did not stop at physiological maturity in common bean, but continued during maturation drying.

Our results suggested that standard germination test was a good indicator for seed quality of chickpea harvested at different stages. This is in agreement with Ram et al. (1989) who concluded that standard germination test was best correlated with field emergence in chickpea, and Fernandez and Johnson (1995) who reported that standard germination test was a good test to predict quality of chickpea, lentil, and bean. Makkawi et al. (1999) suggested standard germination test as a reliable test for measuring seed quality in lentil. Maximum seed vigor of chickpea as estimated by the germination after cold test, the germination after accelerated aging test, and electrical conductivity of seed leachates was attained when seeds were harvested at the Y stage. These results were in agreement with other researchers, who found that maximum seed vigor in other leguminous crops was attained at the physiological maturity such as in soybean (TeKrony et al., 1980) and other crops as wheat (Rasyad et al., 1990). Turning the pod color to yellow was a good indicator of the maximum seed vigor in chickpea.

The standard germination test, seedling dry weight, and accelerated aging test separated the differences among maturity stages in seed quality better than the cold test and the electrical conductivity of seed leachates. There was significantly difference in standard germination and seedling dry

weight among all maturity stages in both growing seasons and planting dates, which indicate that those tests were a good indicator of seed quality during maturation.

Seedling dry weight was a good indicator of seed quality during maturation in chickpeas, which was in agreement with other researchers who concluded that seedling dry weight was one of the best single vigor tests that predicted field emergence or correlated with other vigor tests in wheat (Steiner et al., 1989) and in lentil (Makkawi et al., 1999). On the other hand, seedling dry weight was less sensitive test to evaluate seed quality of barley (Al-Kofahi, 2003).

Seeds harvested at later stages had higher AA germination percentage than those harvested at early stages, however, the difference in AA germination at later stages varied between planting dates. No significant difference between the seeds harvested at the BS and FS stages was observed in the germination after AA test in both growing seasons and planting dates. In winter-sown plants, the seeds harvested at the Y and B stages were significantly higher in AA germination than the seeds harvested at the GY stage in both growing seasons. In the spring-sown plants, there were significantly differences in AA germination among seeds harvested at the GY, Y, and B stages. These results indicated that AA-germination showed that the seeds harvested at the GY stage were inferior in seed quality compared with the seeds harvested at later stages. In addition, the results of AA test showed

that the seeds harvested at the Y stage in spring-sown plants had lower quality than those harvested at the same stage in winter-sown plants. The AA test was useful in identifying seed vigor status in chickpea (Ram et al., 1989), cotton (Bishoni and Delouche, 1980), and barley (Al-Kofahi, 2003).

In cold test, the seeds harvested at the GY stage had lower germination than the seeds harvested at the Y and B stages similar to the results of the standard germination, SLDW, and AA tests. The difference in the germination after cold test was not statistically significant between the seeds harvested at the Y and B stages. These results indicated that cold test did not separate the difference in quality of the seeds harvested at later stages. Similar results were observed by other researchers, who indicated that cold test was unreliable test to accurately estimate seed vigor in lentil (Makkawi et al., 1999), maize (Nijënstein, 1985), sweet corn (Wilson et al., 1992), and cotton (Swan et al., 1993).

In the EC test, the seed harvested at early stages (the BS, FS, and GY) was significantly different in EC values. However, the seeds harvested at later stages (the Y and B) were not significantly different in the EC values, and these stages had the minimum electrical conductivity values in both growing seasons. The results were in agreement with Muasya et al. (2002), who concluded that minimum electrical conductivity was achieved at lower moisture content stage in common bean which was closed to PM in two sowing dates. Also, the lower values of EC may be related with later stages of

harvest which had higher seed dry weight in compared to earlier harvested seeds (Illiprenti et al., 2000). Hoy and Gamble (1985) reported that the higher electrical conductivity values of seed leachates in small seeds as compared to large seeds was an indication of the low vigor, which was agreed with Massimi (2004) founds in barley cultivars. Ram et al. (1989) reported that electrical conductivity was unreliable indicator for field performance in chickpea. In contrast, other researchers showed that the EC conductivity was a good indicator of seed vigor in lentil, bean, and chickpea (Fernandez and Johnson, 1995) and pea (Siddique et al., 2002).

The results of all seed quality tests in our study indicated that the differences in seed quality among the maturity stages were more pronounced by using SGT, SLDW, and AA tests than cold and EC tests.

In general, planting date had no effect on the standard germination of the fresh and air-dried seeds; however, planting date reduced seed vigor as estimated by SLDW, EC, cold, and AA test.at specific maturity stages. In both growing seasons, the cold germination of the seeds harvested at the FS stage and the AA germination of the seeds harvested at the Y stage was lower in spring-sown plants than in winter-sown plants. For the SDW, the seeds harvested at the B stage in spring-sown plant had lower SDW than those in winter-sown plants. The EC value for the seeds harvested at the GY stage was higher in winter-sown plants, which indicated lower quality, than in spring sown plants. This was in agreement with the results of the AA germination

for the seeds harvested at the GY stage, which showed that the AA germination was higher in spring-sown than in winter-sown plants. The AA germination of seeds harvested at the GY stage was very low (< 20%) in both growing seasons and planting dates. In general, the results of the quality tests indicated that the seeds harvested from spring-sown plants were more often lower in quality than the seeds harvested from winter-sown plants.

Our results suggested that standard germination test (SGT) had a strong correlation, positively with seedling dry weight (SLDW), accelerated aging test (AA), and cold test (CT) and negatively with electrical conductivity test (EC). This agreement with Fernandez and Johnson (1995) who reported that standard germination test was negatively correlated well with electrical conductivity test in lentil; bean, and chickpea, also standard germination and electrical conductivity tests were closely associated to each other in lentil (Makkawi et al., 1999) and in garden peas (Castillo et al., 1992).

From other hand, this was in disagreement with Ram et al. (1989) who reported that standard germination test was not well correlated with electrical conductivity of seeds leachates in chickpea, but it was strongly correlated with accelerated aging test.

Seedling dry weight was positively associated with accelerated aging and cold tests, and negatively associated with electrical conductivity test. Makkawi et al. (1999) reported a negative correlation between seedling dry weight and electrical conductivity test in lentil. Generally, in case of electrical

conductivity test, the electrolyte leakage from seed leachates was negatively correlated with other seed vigor tests as measured by Heslehurst (1988) in wheat and Sami and Gupta (1990) in lentil.

5.2 Nutrient Accumulation during Seed Development

The macro- and micro-nutrient concentrations on a dry weight basis had the greatest reduction when seeds developed from the BS to FS stage, then decreased progressively at lower rate at later developmental stages (GY, Y, and B stages). This reduction in nutrient concentrations with seed maturation was most likely due to the increased in seed dry weight accumulation with maturity (Pascal and Crookstone, 1981). In soybean seed, the nutrient concentrations were high during lag phase (the initial phase of seed development) of seed growth, and during the linear growth of seed, nutrient concentration decreased (Sale and Campbell, 1980b). In the present study, during the early stage of the lag phase of seed development, seeds had the greatest rate of dry weight accumulation. The seeds reached the maximum dry weight when seeds where harvested at the Y stage of development, reaching the physiological maturity. This may explain the lower rate of the reduction in nutrient concentrations at the later stages of development in this study. In general, there was no significant decrease in nutrient concentrations when seeds developed from the Y to B stage. The results in the literature (Pascal and Crookstone, 1981; Sale and Campbell, 1980b) and in the present

study confirmed the fact that the nutrient concentrations on a dry weight basis decreased with seed maturity due to the dilution effect of the high rate of dry weight accumulation.

Planting date affected nutrient concentrations with variation among nutrients and this effect might be due to the dry weight dilution or the pattern of translocation of nutrients to the developing seeds. Seeds harvested from spring-sown plants had higher N concentration than those harvested from winter-sown plants in 2003 growing season. Similar results were observed on Co in 2004 growing season. The increase in N concentration in spring-sown plants was inconsistent with Hymowitz et al. (1972b), who reported there was no effect of planting date on protein percentage in soybean seeds. In the present study, the increase in N concentration was consistent with the findings of the Kane et al. (1997) in soybean, Siddique et al. (2002) in pea, who found that delayed planting increased protein percentage in seeds. Planting date had no consistent effect on the concentrations of P, K, Mg, Zn and Mn. On other hand, the seeds harvested from FS and Y stages from spring sown-plants had lower concentrations of Ca in 2004 growing season than those harvested from winter-sown plants. Similarly, the seeds harvested at BS, FS and GY stages from spring-sown plants in both growing seasons had lower Fe concentration than those from winter-sown plants. Since the seeds harvested at the FS, GY, and Y stages in 2003 and at the GY and Y stages in 2004 had significantly higher dry weight in spring-sown plants than those seeds harvested at same

stages in winter-sown plants, the effect of plant date on nutrient concentration might be due to the dilution effect of dry weight or to the differences in allocation pattern of these nutrients to the developing seeds in spring-sown plants versus winter-sown plants. Eck and Musick (1979) explained that the increase in N concentration in panicle of water-stressed sorghum was due to the reduction in dry matter accumulation under water stress, which resulted in less dilution of accumulated N. Since the seeds harvested from spring-sown plants had higher seed dry weight than those seeds harvested at the same stage of maturity from winter-sown plants, the increase in N concentration in spring-sown seeds was unlikely due to seed growth dilution.

Since seed dry weight may affect nutrient concentrations during maturation due to growth dilution effect, the nutrient accumulation in developing seeds was presented as content per seed (Table 11 and 12), which may help to understand the pattern of nutrient accumulation in developing seeds. In general, seed nutrient content increased with maturation, reaching maximum accumulation at later stages of development. Seed nutrient content was significantly increased during soybean seed development and maturation (Sale and Campell, 1980b).

Although similarities in nutrient accumulation pattern were evident, variations occurred between planting dates and nutrients. During the rapid expansion phase (BS to FS stage), nutrient content had the most pronounced increased, but subsequent increases were progressively smaller. By the onset

of seed physiological maturity (the Y stage), the seeds contained > 80% of its final nutrient content at maturity for N, P, Ca, Mg, Zn, Mn, and Co, and this accumulation was affected by planting date at greater extent than growing season (Figures 2, 3, 4). At the onset of leaf senescence, about 80% of the final mineral nutrient content had been translocated to the seeds of soybean (Sale and Campbell, 1980b). Although the seeds harvested at the FS and GY from spring-sown plants tended to have higher accumulation of N, P, Mg, Mn, and Co, the seeds harvested at the Y stage from winter-sown plants contained higher percentage of its final content of N, P, Ca, Mg, Zn, and Co, nutrients than those harvested from spring-sown plants. For example, the seeds harvested at the Y stage contained 90 and 93% of its final N content in winter-sown plants, while the seeds harvested at the same stage in spring-sown plants contained only 77 and 86% of its final N content in 2003 and 2004 growing seasons, respectively. Such information emphasized the importance of planting date on the percentage of accumulated nutrients in the seeds harvested at the same maturity stage, suggesting that delay seed harvesting to B stage increased seed nutrient contents in spring-sown plants. The data also suggest that nutrient translocation to seeds continued after seed reach physiological maturity (the maximum dry weight accumulation), indicating that nutrient movement was not directly coupled to assimilate movement similar to the finding of Sale and Campbell (1980b) in developing soybean seeds.

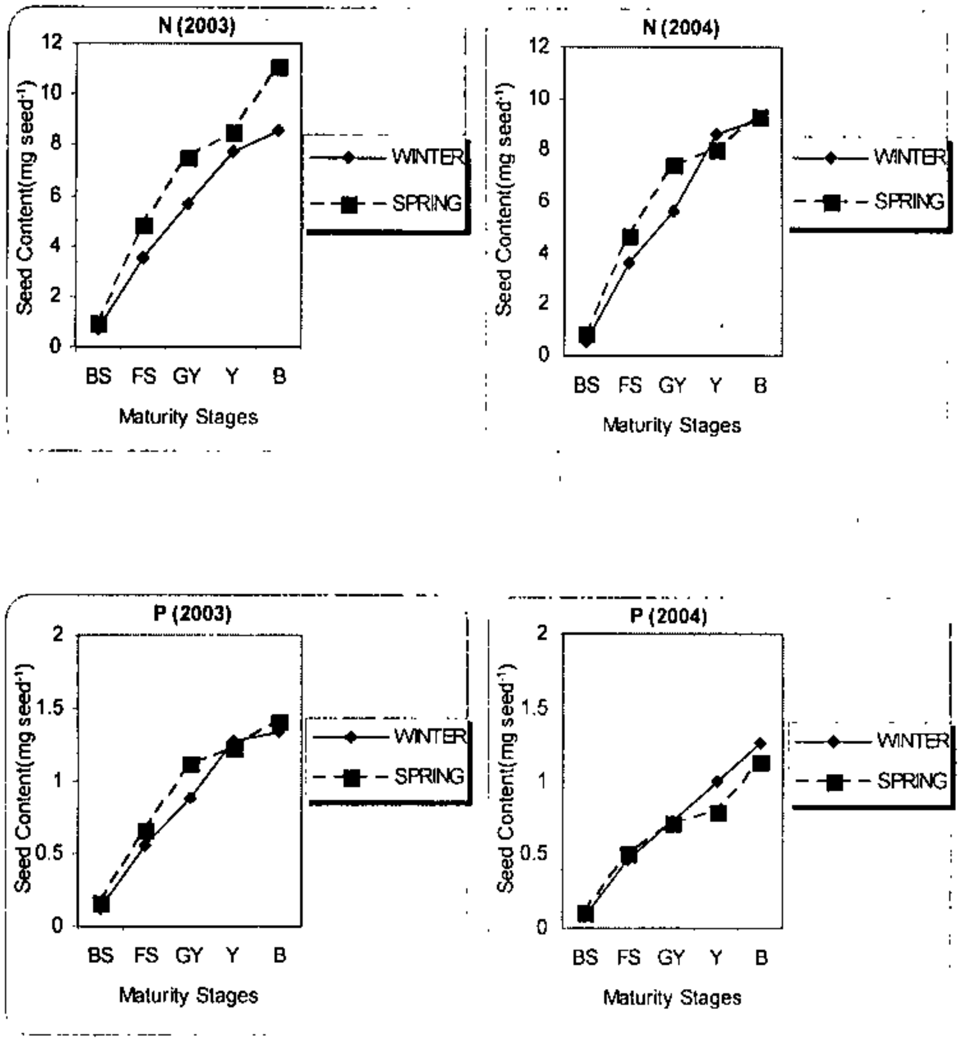


Figure 2. Accumulation pattern of Nitrogen (N) and Phosphorous (P) in chickpeas seed during different developmental stages at two growing seasons.

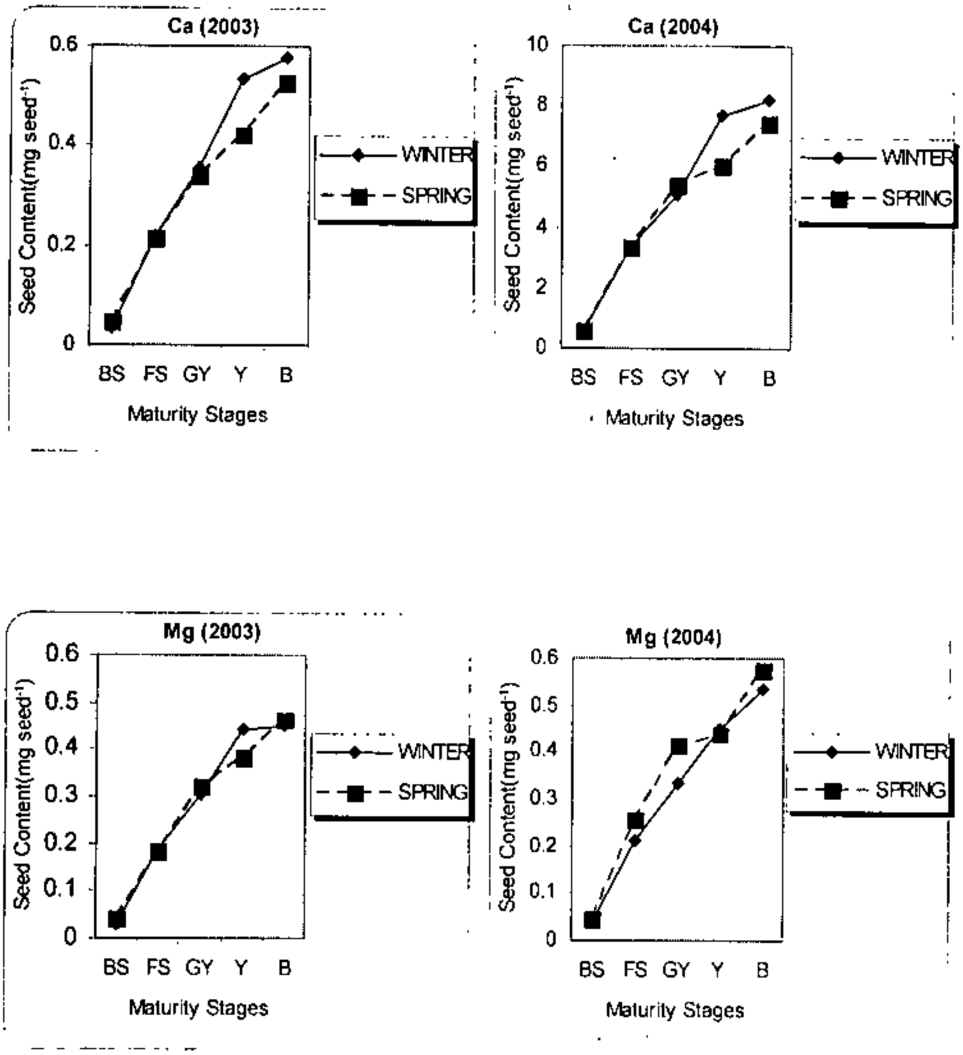


Figure 3. Accumulation pattern of Calcium (Ca) and Magnesium (Mg) in chickpeas seed during different developmental stages at two growing seasons.

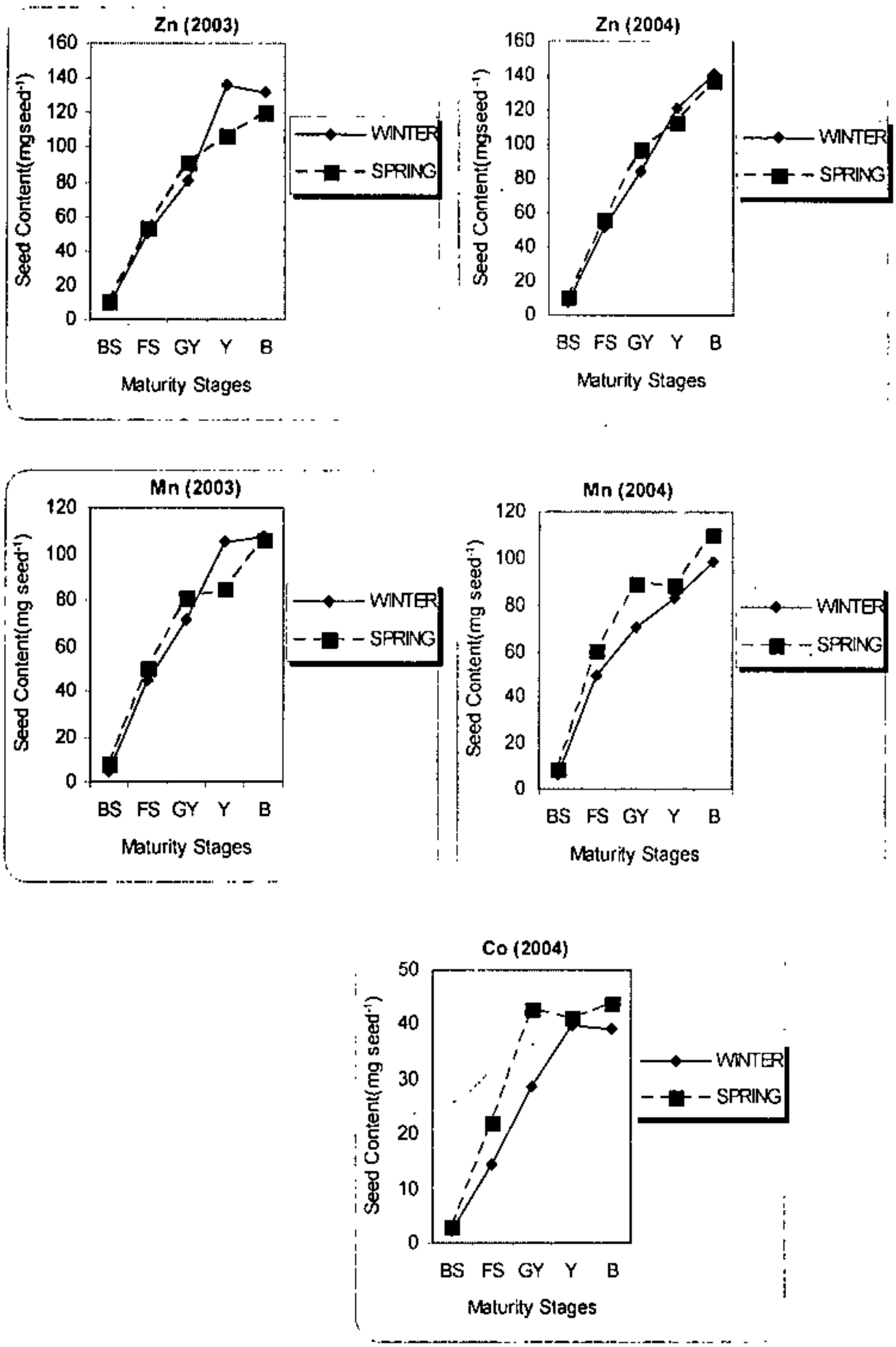


Figure 4. Accumulation pattern of Zinc (Zn), Manganese (Mn) and Cobalt (Co) in chickpeas seed during different developmental stages at two growing seasons.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

- Chickpea reached the physiological maturity (maximum seed dry weight) when pods turned yellow.
- Chickpea attained maximum seed germination capability after the seed physiological maturity, whereas maximum seed vigor as estimated by seedling dry weight, the germination after cold test, germination after accelerated aging test, and electrical conductivity of seed leachates was attained when seeds were harvested at the physiological maturity.
- The standard germination test, seedling dry weight, and accelerated aging test separated the differences in seed quality among maturity stages better than the cold test and the electrical conductivity of seed leachates.
- The seeds harvested from spring-sown plants were more often lower in quality than the seeds harvested from winter-sown plants as estimated by seedling dry weight and other vigor tests at specific maturity stages, whereas planting date had no effect on the standard germination test.
- Standard germination test had a strong positive correlation with seedling dry weight, accelerated aging test, and cold test and negatively with electrical conductivity test, where seedling dry weight was positively correlation with accelerated aging and cold tests, and negatively correlation with electrical conductivity test, and the

electrical conductivity test was negatively correlated with other seed vigor tests.

- Nutrient content per seed increased as seed matured, reaching the maximum at the B stage.
- Planting date affected nutrient concentrations with variation among nutrients and this effect might be due to the dry weight dilution or the pattern of translocation of nutrients to the developing seeds.
- Delay seed harvesting to brown stage (after physiological maturity) increased seed nutrient contents in spring-sown plants as compared with winter-sown plants.

REFERENCES

1. A. Abu El-Gassim, Seed Quality and Vigor, In: A. Van Gastel and J. Kerley, eds. Quality Seed Production. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA) Aleppo, Syria (1988) pp. 15- 32.

2. A. Castillo, J. Hampton and P. Coolbear, Effect of Time and Method of Harvest on Seed Vigour in Garden Peas (*Pisum sativum* L.). Journal of Applied Seed Production. vol. 10, pp. 34-36 (1992).

3. A. Castillo, J. Hampton and P. Coolbear, Effect of Population Density on within Canopy Environment and Seed Vigour in Garden Pea (*Pisum sativum* L.). Proceedings Annual Conference Agronomy Society of New Zealand. vol. 23(a), pp. 99-106 (1993).

4. A. Castillo, J. Hampton and P. Coolbear, Influence of Seed Quality Characters on Field Emergence of Garden Peas (*Pisum sativum* L.) Under Various Sowing Conditions. New Zealand Journal Crop and Horticulture Science. vol. 21(b), pp. 197-205 (1993).

5. A. Castillo, J. Hampton and P. Coolbear, Effect of Sowing Date and Harvest Timing on Seed Vigour in Garden pea (*Pisum sativum* L.). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science. vol. 22, pp. 91-95 (1994).

6. A. Fay, M. McDonald and S. Still, Vigor Testing of (*Rudbeckia fulgida*) seeds. Seed Science and Technology. vol. 21, pp. 453-462 (1993).

7. A. Kermode, J. Bewley, J. Dasgupta, and S. Misra, The transition from seed development to germination: a key role for desiccation? Hort. Science. vol. 21, pp. 1113-1118 (1986).

8. A. Masadeh, I. Hawash and N. Al-Majali, Chickpea in Jordan, In: N. Saxena, M. Saxena, C. Johnson, S. Virmani and H. Harris, eds. Adaptation of Chickpea in the West Asia and North Africa Region. (ICARDA and ICRISAT) Aleppo, Syria (1996) pp. 47-54.

9. A. Rasyad, D. Van Sanford and D. Tekrony, Changes in Seed Viability and Vigour during Wheat Seed Maturation. Seed Science and Technology. vol. 18, pp. 259-267 (1990).

10. A. Siddique, B. Wright and S. Mahbub Ali, Effect of Time of Sowing on the Quality of Pea Seed. Journal of Biological Science. vol. 2(6), pp. 380-383 (2002).

11. Association of Official Seed Analysts (AOSA), Rules for Testing Seeds. Journal of Seed Technology. (1981) vol. 6, pp. 1-125.

12. Association of Official Seed Analysts (AOSA), Seed vigor testing handbook, Contribution (1983) vol. 3, pp. 88.

13. B. Singh, K. Singh, M. Pandita and Y. Malik, Association between Laboratory and Field Vigor Tests in Vegetable Pea. Agricultural Science Digest. vol. 15, pp. 69-72 (1995)..

14. B. Snobar, A. Masadeh and N. Haddad, Annual Report 1990/1991 of Food Legume Improvement and Mechanization Project, Faculty of Agriculture, University of Jordan Amman, Jordan, (1991).

15. C. Baskin, Relation of Certain Physiological Properties of Pea nut Seed to Field Performance and Storability, Ph.D. Dissertation, Mississippi State University, State Collage, USA (1971).

16. C. Funk, M. Anderson, M. Johnson and R. Atkinson, Effect of Seed Source and Seed Age on Field and Laboratory Performance of Field Corn. Crop Science. vol. 2, pp. 318-320 (1962).

17. C. Gurusamy and C. Thiagarajan, The Pattern of Seed Development and Maturation in Cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. botrytis). vol. 38, pp. 259-268 (1998).

18. C. Gurusamy, Effect of Stage of Harvesting on Seed Yield and Quality of Cauliflower. Seed Science and Technology. vol. 27, pp. 929-936 (1999).

19. C. Mishra, Response of chickpea varieties to fertilizer application on farmer's field under rainfed conditions. Madras Agricultural Journal. vol. 82 (4), pp. 328 (1995).

20. C. Pieta Filho and R. Ellis, The Development of Seed Quality in Spring Barley in Four Environments. 1.Germination and Longevity. Seed Science Research. vol. 1, pp. 163-167 (1991).

21. C. Ram and L. Weisner, Effect of Artificial Aging on Physiological and Biochemical Parameters of Seed Quality in Wheat. Seed Science and Technology. vol. 16, pp. 579-587 (1988).

22. C. Ram, P. Kumari, O. Singh and R. Sardana, Relationship between Seed Vigour Tests and Field Emergence in Chickpea. Seed Science and Technology. vol. 17, pp. 169-173 (1989).

23. Department of Statistics, Statistical Year Book, Amman, Jordan (2004).

24. Department of Meteorology, Annual bulletin of climate data of Jordan, Amman, Jordan (2005).

25. D. Hoy and E. Gamble, The effects of seed size and density on germination and vigor in soybean (*Glycine max* L.). Canadian Journal of Plant Science. vol. 65, pp. 1-8 (1985).

26. D. Keatinge and H. Cooper, Kabuli Chickpeas as a Winter Sown Crop in Northern Syria: Moisture Relations and Crop Productivity. Journal of Agricultural Science. vol. 100, pp. 667-680 (1983).

27. D. Miles, D. TeKrony and D. Egli, Changes in viability, germination, and respiration of freshly harvested soybean seed during development. Crop Science. vol. 28, pp. 700–704 (1988).

28. D. Perry, Hand book of Vigour Test Methods, International Seed Testing Association (ISTA) Zurich, Switzerland (1981).

29. D. Priestly and C. Leopold, Absence of Lipid Oxidation during Accelerated of Soybean Seeds. Plant Physiology. vol. 63, pp. 726-729 (1979).

30. D. Sanker Rao and Y. Deolsthale, Mineral composition of four Indian legumes. Journal of Food Science. vol. 46, pp. 1962- 1963 (1981).

31. D. TeKrony, D. Egli, J. Balles, T. Pfeiffer and R. Fellows, Physiological Maturity in Soybeans. Agronomy Journal. vol. 71, pp. 771-775 (1979).

32. D. TeKrony, D. Egli, A. Phillips, Effect of Field Weathering on the Viability and Vigor of Soybean Seed. Agronomy Journal. vol. 72, pp. 749-753 (1980).

33. D. TeKrony, D. Egli, J. Balles, R. Stuckey and L. Tomes, Effect of date of harvest maturity on soybean seed quality and *Phomopsis* sp. Seed infection. Crop Science. vol. 24, pp. 189-193 (1984).

34. D. TeKrony and D. Egli, Relationship of Seed Vigor to Crop Yield: A review. Crop Science. vol. 31, pp. 816-822 (1991).

35. D. Wilson, C. John, S. Bahman and S. Mohan, Combining vigor test results for prediction of final stand of shrunken-2 sweet corn seed. Crop Science. vol. 32, pp. 1496-1502 (1992).

36. E. Halligan, The Effect of Elevated Temperatures and their Duration on the Incidence of Hollow Heart in Pea Seed. Ann.Appl.Bio. vol. 109, pp. 619-625 (1986).

37. E. Knight, Seed Weathering in Chickpea. International Chickpea Newsletter. vol. 29, pp. 25-27 (1993).

38. E. Moreno-Martinez, M. Vazques-Badillo, A. Rivera, R. Navarrete, and F. Fsquivel-Villagrana, Effect of Seed Shape and Size on Germination of Corn (*Zea mays* L.) Stored Under Adverse Conditions. Seed Science and Technology. vol. 26, pp. 439-448 (1998).

39. E. Roberts and K. Osei-Bonsu, Seed and Seedling Vigour. In: Summerfield RG, ed. World Crops, Cool Season Food Legumes (Kluwer Academic Publishers) the Netherlands (1988) pp. 879-910.

40. F. Trillo, Promoting A Sample Farmers Seed Program at Eltigre, Anzoategui State, Venezuela, In: G. Hartmut, ed. (Organization and Management of National Seed Programs) Aleppo, Syria (1994) pp. 54-60.

41. G. Barla-Szab and B. Dolinka, Complex Stressing Vigor Test: A new Method for Wheat and Maize Seed. Seed Science and Technology. vol. 36, pp. 63-73 (1988).

42. G. El Nour, A. Saeed and A. El Mobark, A note on chemical, nutritional and technological aspects of chickpea. Sudan Journal of Food Science and Technology. vol. 10, pp. 45- 53 (1978).

43. G. Fernandez and M. Johnson, Seed Vigour Testing in Lentil, Bean, and Chickpea. Seed Science and Technology. vol. 23, pp. 617-627 (1995).

44. G. Harman and T. Stasz, Influence of Seed Quality on Soil Microbes and Soil Rots, In: S. West, ed. Physiological-Pathological Interactions Affecting Seed Deterioration. (CSSA Special Publication) Crop Science Society of America, Madison, USA (1986) vol. 12, pp. 11-37.

45. G. Hawtin and K. Singh, Prospects and Potential of winter sowing of chickpea in the Mediterranean region, In: M. Saxena and K. Singh, eds. Ascochyta Blight and Winter Sowing of Chickpea, (Dr .W. Junk Publishers) The Hague, The Netherlands (1984) vol. 7, pp. 16.

46. G. Koinov, P. Radkov and M. Kolarova, Correlation between some technological qualities and colour of chickpea seed. Rasteniev'dni Nauki. vol.13, pp. 15- 20 (1976).

47. G. Ware and J. Mccallum, Producing Vegetable Crops, (Thomson Publication) Fresno, California (1975) pp. 67-71.

48. H. Champan and P. Pratt, Methods of analysis for soils, plants, and waters. Priced Publication, (Berkley) University of California, Division of Agriculture Sciences, USA (1961).

49. H. Eck and J. Musick, Plant water stress effects on irrigated grain sorghum. II Effects on nutrients in plant tissues. Crop Science. vol. 19, pp. 592-598 (1979)

50. H. Kraak, J. Vos, D. Derry and J. Bekendam, Studies on Field Emergence and Vigor of Sugar beet and Onion Seeds. Seed Science and Technology. vol.12, pp. 731-745 (1984).

51. H. Zaiter and S. Barakat, Flower and Pod Abortion in Chickpeas as Affected by Sowing Date and Cultivar. Canadian Journal of Plant Science. vol. 2, pp. 321-327 (1994).

52. I. Adetunji, Effect of Harvest Date on Seed Quality and Viability of Sun flower in Semi arid Tropics. Seed Science and Technology. vol.19, pp. 571-580 (1991).

53. International Seed Testing Association (ISTA), Rules for Seed Testing: Rules and Annexes. Seed Science and Technology. vol. 13, pp. 299-355 (1985).

54. International Seed Testing Association (ISTA), Vigor Test Committee. High Germination Seed Lots Can Differ Substantially in Field Emergence. Asian Seed. vol. 2, pp. 12-13 (1995).

55. I. Papastylanou, Effect of Preceding Legume on Cereal Grain and Nitrogen Yield. Journal of Agricultural Science. vol. 108, pp. 623-626 (1987).

56. J. Bowers, Preliminary studies on cucumber seed development as related to viability. Proceedings of the Association of Southern Agricultural Workers. vol. 55, pp. 163-164 (1958).

57. J. Bremner and C. Mulvancy, "Nitrogen –Total", In: A. Miller and D. Keeney, eds. Methods of soil analysis, USA (1982) part 2, pp. 59-69.

58. J. Burris and R. Navratil, Relationship between Laboratory Cold Test Methods and Field Emergence in Maize Inbreds. Agronomy Journal. vol. 71, pp. 985-988 (1979).

59. J. Cassells and L. Caddick, Influence of Harvest Time on Yield and Seed Quality of Desi Type Chickpeas. Australian Post harvest Technical Conference. pp. 199-205 (2000).

60. J. Cowan, M. Esfahani, J. Salji and A. Nahapetian, Nutritive value of Middle Eastern Foods. Π. Physiological availability of iron in selected foods common to the Middle East. Journal of the Science of Food and Agriculture. vol. 18, pp. 227- 231 (1967).

61. J. Delouche and C. Baskin, Accelerated Aging Techniques for Predicting the Relative Storability of Seedlots. Seed Science and Technology. vol. 1, pp. 427-452 (1973)

62. J. Delouch, Environmental Effects on Seed Development and Seed Quality. Horticulture Science. vol. 1, pp. 775-780 (1980).

63. J. Delouche, Seed Storage Practices and Problems for Cool Season Food Legumes. In: R. Summerfield, ed. World Crops, Cool Season Food Legumes. (Kluwer Academic Publishers) the Netherlands (1988) pp. 331-339.

64. J. Hallion, Microorganisms and Seed Deterioration, In: M. McDonald and C. Nelson, eds. Physiology of Seed Deterioration. (CSSA Special Publication) Crop Science Society of America, Madison, USA (1986) vol. 11, pp. 89-99.

65. J. Hampton and P. Coolbear, Potential Versus Actual Seed Performance can Vigor Testing Provides an Answer. Seed Science and Technology. vol. 18, pp. 215-228 (1990).

66. J. Hampton and D.Tekrony, Hand Book of Vigour Test Method, 3rd edition. (International Seed Testing Association) Zurich, Switzerland (1995).

67. J. Harbison, B. Hall, R. Nielsen and W. Strong, Comparison of winter cereal, oilseed and grain legume crops on the Darling Downs, Queensland (Australia). Australian Journal of Experimental Agriculture. vol. 26, pp. 339-346 (1986).

68. J. Harrington, Effect of fruit maturity and harvesting methods on germination of musk-melon seed. Proceedings of the American Society for Horticultural Science. vol. 73, pp. 422-430 (1959).

69. J. Harrington, The Necessity for High Quality Vegetable Seed. Horti Science. vol. 6, pp. 550-556 (1971).

70. J. Harrington, Seed Storage Longevity, In: T. Kozlowsky, ed. Seed Biology (Academic Press) New York (1972) vol. 3, pp. 145-245.

71. J. Nijënstein, Effects of some factors influencing cold test germination of maize. Seed Science and Technology. vol. 14, pp. 313-326 (1985).

72. J. Pascal, R. Crookstone, Effect of flowering on accumulation of dry matter and proyein in soybean. Crop Science. vol. 22, pp. 652-654 (1981).

73. J. Steiner, D. Grabe and M. Tulo, Single and multiple vigor tests for predicting seedling emergence of wheat. Crop Science. vol. 29, pp. 782-786 (1989).

74. K. Siddique, R. Brinsmead, R. Knight, E. Knights, J. Paull and I. Rose, Adaptation of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) and faba bean (*Visia faba* L.) to Australia, In: R. Knight, ed. Cool-season Food Legumes. (Kluwer Adelaide) the Netherlands (1999).

75. K. Singh, Chickpea (*Cicer arietinum* L.). Field Crop Research. vol. 53, pp. 161-170 (1997).

76. L. Copeland and M. McDonald, Principles of Seed Science and Technology, 3rd edition (Champan and Hall) United States of America, New York (1995).

77. L. Leport, N. Turner, R. French, M. Barr, R. Duda, S. Davies, D. Tennant and K. Siddique, Physiological Responses of Chickpea Genotypes to Terminal Drought in a Mediterranean-type Environment. European Journal of Agronomy. vol. 11, pp. 279-291 (1999).

78. L. Van Der Maesen and L. Cicer, A Monograph of the Genus with Special Reference to Chickpea (*Cicer arietinum* L.), its Ecology and Cultivation, (Landbouw) Wageningen (1972) pp. 72-100.

79. M. Heslehurst, Quantifying initial quality and vigor of wheat seeds using regression analysis of conductivity and germination data from ages seeds. Seed Science and Technology. vol. 13, pp. 23 (1988).

80. M. Kane, C. Steele, L. Grabau, C. MacKown and D. Hildebrand, Early-maturing soybean cropping system: III. Protein and oil contents and oil composition. Agronomy Journal. vol. 89, pp. 464-469 (1997).

81. M. Makkawi, M. El Balla, Z. Bishaw and A. Van Gastel, The Relationship between Seed Vigour Test and Field Emergence in Lentil (*Lens culinaris* Medikus). Seed Science and Technology. vol. 27, pp. 657-668 (1999).

82. M. Massimi, Effect of seed size on performance, yield, and yield components of barley grown under rainfed conditions of Jordan, M.Sc. Thesis, Jordan University of Science and Technology, Irbid, Jordan (2004).

83. M. McDonald, Physical Seed Quality of Soybean. Seed Science and Technology. vol. 13, pp. 601-628 (1985).

84. M. Pala and A. Mazid, On Farm Assessment of Improved Crop Production Practices in Northwest Syria. Experimental Agriculture. vol. 28, pp. 175- 184 (1992).

85. M. Sami and P. Gupta, Seed dormancy studies in lentil during storage. Legume Research. vol. 3, pp. 71-77 (1990).

86. M. Saxena, Recent Advances in Chickpea Agronomy, In Proceeding of the International Workshop on Chickpea Improvement (ICRISTA) Patancheru, India (1980) pp. 89-96.

87. M. Saxena, Agronomic Studies on Winter Chickpeas, In: M. Saxena and K. Singh, eds. Proceeding of the Workshop on Ascochyta Blight and Winter Sowing of Chickpeas (ICARDA) Aleppo, Syria (1981) pp. 123-139.

88. M. Saxena, Effect of Climatic Stress and Soil Chemical Toxicities on Productivity of Chickpea in West Asia and North Africa. pp. 135-141 (1987).

89. M. Saxena, Utilization of Food Legumes for Human Consumption, In: Jornadas Portuguesas de Protenaginosas Comunicacoes, Oeiras, Portugal (1987) pp. 406- 419.

90. M. Saxena and K. Singh, The Chickpea. International Center for Agricultural Research in Dry Area (ICARDA) Aleppo, Syria (1987).

91. M. Saxena, Food Legumes in the Mediterranean type of environment and ICARDA`s effort in Improving their Productivity. In: D. Beck and L. Materon, eds. Nitrogen Fixation by Legumes in Mediterranean Agriculture. (Dr. Junk Publishers) The Hague, Netherlands (1988) pp. 11- 23.

92. M. Saxena, S. Silim and K. Singh, Effect of Supplementary Irrigation during Reproductive Growth on Winter and Spring Chickpea *(Cicer arietinum)* in a Mediterranean Environment. Journal of Agricultural Science. vol. 114, pp. 285-293 (1990).

93. M. Saxena, Chickpea in the WANA Region: An Overview, In: N. Saxena, M. Saxena, C. Johnson, S. Virmani and H. Harris, eds. Adaptation of Chickpea in the West Asia and North Africa Region (ICARDA and ICRISAT) Aleppo, Syria (1996) pp. 3-6.

94. N. Adam, J. McDonald and R. Henderlong, The Influence of Seed Position, Planting and Harvesting Dates on Soybean Seed Quality. Seed Science and Technology. vol.17, pp. 143-152 (1989).

95. N. Kaushik, Effect of Capsule Maturity on Germination and Seedling Vigour in (*Jatropha curcas*). Seed Science and Technology. vol. 31, pp. 449-454 (2003).

96. N. Louwars, Connecting Formal and Local Seed in Development integrated Seed Supply Systems, In: G. Hartmut, ed. Organization and Management of National Seed Programs. Aleppo, Syria (1996) pp. 10-17.

97. N. Samarah, N. Allataifeh, M. Turk and A. Tawaha, Seed germination and dormancy of fresh and air-dried seeds of common vetch (*Vicia sativa* L.) harvested at different stages of maturity. Seed Science and Technology. vol. 32, pp. 11-19 (2004).

98. N. Saxena, M. Saxena, C. Johnson, S. Virmani and H. Harris. Adaptation of Chickpea in the West Asia and North Africa Region. (ICARDA and ICRISAT) Aleppo, Syria (1996).

99. P. Agrawal, Seed Vigor: Concepts and Measurement, In: J. Srivastava and L. Simarski, eds. Seed Production Technology (ICARDA) Aleppo, Syria (1986) pp. 190- 198.

100. P. Halmer and J. Bewely, A Physiological Perspective on Seed Vigour Testing. Seed Science and Technology. vol. 12, pp. 561-575 (1984).

101. P. Hebblethwaite, Seed Production, (Butterworths) London, Boston (1980) pp. 585-591.

102. P. Sale and L. Campbell, Patterns of mineral nutrient accumulation in soybean seed. Field Crop Research. vol. 3(b), pp. 157-163 (1980).

103. P. Singh and S. Virmani, Modeling Growth and Yield of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). Field Crop Research. vol. 46, pp. 41-59 (1996).

104. P. William, U. Singh, Nutritional Quality and the Evaluation of Quality in Breeding Programmes, In: M. Saxena, K. Singh, eds. The Chickpea. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas Publisher (ICARDA) Aleppo, Syria (1987) pp. 330- 333.

105. R. Ellis, T. Hong and E. Roberts, Comparison Cumulative Germination and Rate of Germination of Dormant and Aged Barley Seed lots at different constant Temperature. Seed Science and Technology. vol. 15, pp. 717-727 (1987).

106. R. Ellis, P. Agrawal and E. Roos, Harvesting and Storage Factors that Affect Seed Quality in Pea, Lentil, Faba beans and Chickpea, In: R. Summerfield, ed. World Crops, Cool Season Food Legumes. (Kluwer Academic Publishers), the Netherlands (1988) pp. 303-329.

107. R. Illipronti, W. Lommen, C. Langerak and P. Struik, Time of pod set and seed position on the plant contribute to variation in quality of seeds within soybean seed lots. Netherland Journal of Agricultural Science. vol. 48, pp. 165-180 (2000).

108. R. Jambunathan and U. Singh, Studies on Desi and Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars 3. Mineral and Trace element composition. Journal of Agriculture Food Chemistry. vol. 29 pp.1093- 1095 (1981).

109. R. Johnson and M. Wax, Relationship of Soybean Germination and Vigor Tests to Field Performance. Agronomy Journal. vol. 70, pp. 273-278 (1978).

110. R. Muasya, W .Lommen and P. Struik, Differences in Development of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Crops and Pod Fractions with a Crop Π Seed Viability and Vigour. Field Crops Research. vol. 75, pp. 79-89(2002).

111. R. Vieira, J. Pavia-Aguero, D. Perecin and S. Bittencourt, Correlation of Electrical Conductivity and other Vigor Tests with Field Emergence of Soybean Seedlings. Seed Science and Technology. vol. 27, pp. 67-75 (1999).

112. S. Al-Kofahi, Relationship of Seed Vigor Test to Field Performance of Aged Barley (*Hordeum vulgare* L.) Seeds, M.Sc. Thesis, Jordan University of Science and Technology, Irbid, Jordan (2003).

113. S. Chandra and S. Arora, An estimation of protein, ascorbic acid and mineral matter content in some indigenous exotic varieties of gram (*Cicer arietinum* L.). Current Science. vol. 37, pp. 237- 238 (1968).

114. S. Elias and L. Copeland, Physiological and harvest maturity of Canola in relation to seed quality. Agronomy Journal. vol. 93, pp. 1054-1058 (2001).

115. S. Khanvilkar and B. Desai, Genotypic variation in protein quality and nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Journal of Maharashtra Agricultural University. vol. 6, pp. 226- 228 (1981).

116. S. Sandhu, W. Keim, H. Hodges and W. Nyquist, Inheritance of protein and sulfur content in seeds of chickpeas. Crop Science. vol. 14, pp. 649- 652 (1974).

117. S. Younis, F. Al-Rawi and E. Hagop. Physiological and Biochemical Parameters of Seed Quality in some Rice Varieties (*Oryza Sativa* L.). Seed Research. vol. 18, pp. 148-153 (1990).

118. T. Al-Faqeeh, A Survey of Lentil Seed Quality in Jordan, M.Sc. Thesis, University of Jordan, Amman, Jordan (1997).

119. T. Hegarty, The Physiology of Seed Hydration and Dehydration, and the Relation between Water Stress and the Control of Germination: A review. Plant. Cell and Environment. vol. 1, pp. 101-119 (1978).

120. T. Hymowitz, W. Walker, F. Collins and J. Panczner, Relationship between the content of oil, protein, and sugar in soybean seed. Agronomy Journal. vol. 64b, pp. 613-615 (1972).

121. T. Verma and S. Chaurasia, Seed Productivity and Multiplication ratio of some varieties of vegetable crop. Seed Technology News. vol. 24, pp. 1-5 (1994).

122. U. Bishnoi, Physiological Maturity of Seeds in (*Triticale hexaploid* L.). Crop Science. vol. 14, pp. 819-821 (1974).

123. U. Bishoni and J. Delouche, Relation of vigor tests and seed lots to cotton seedling establishment. Seed Science and Technology. vol. 8, pp.341-346 (1980).

124. V. Van Geffen, An Introduction to Germination Testing, In: J. Srivastava, L. Simarski, eds. Seed Production Technology (ICARDA) Aleppo, Syria (1986) pp. 160-183.

125. W. Mugnisjah and S. Nakamura, Vigour of soybean seed production from different harvest date and phosphorus fertilizer application. Seed Science and Technology. vol. 12, pp. 483-491 (1984).

126. W. Mugnisjah and S. Nakamura, Vigour of soybean seed as influenced by sowing and harvest dates and seed size. Seed Science and Technology. vol. 14, pp. 87-94 (1986).

127. Y. Eshel, Effect of sowing date on growth and seed yield components of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Journal of Agricultural Research. vol. 17, pp. 193-197 (1967).

128. Y. Gupta and A.Kapoor, Chemical composition and protein quality of various grain legumes. Indian Journal of Agriculture Science. vol.50, pp. 393-398 (1980).

129. Y. Wang, J. Hampton and M. Hill, Red Clover Vigor Testing Effect of Three Test Variables. Seed Science and Technology. vol. 22, pp. 99-105 (1994).

130. Z. Swan, M. Maddah El Din and B. Gregg, Cotton Seed Yield, viability and Seedling Vigour as Affected by Plant Density, Growth Retardants, Copper and Manganese. Seed Science and Technology. vol. 21, pp. 417-431 (1993).

APPENDICES

Appendix 1. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two sowing dates on plant height (mm) of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	12.42	0.52	
Main Factor	1	99.22	4.12	
Error	3	16.62		
Sub Factor	4	286.33	11.88	0.0000*
Interaction	4	18.41	0.76	
Error	24	24.108		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 2. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two sowing dates on plant height (mm) of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	35.00	8.67	
Main Factor	1	136.90	33.94	0.0101*
Error	3	4.03		
Sub Factor	4	408.85	22.31	0.0000*
Interaction	4	67.27	3.67	0.0181*
Error	24	18.32		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 7. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on pod width (mm)of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	5.15	18.29	
Main Factor	1	15.62	6.04	0.1457
Error	3	4.09		
Sub Factor	4	26.22	30.70	0.0000*
Interaction	4	0.25	0.29	
Error	24	0.85		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 8. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on pod width (mm)of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.69	0.02	
Main Factor	1	0.02	0.05	
Error	3	0.49		
Sub Factor	4	4.58	2.96	0.0404*
Interaction	4	0.21	0.14	
Error	24	1.55		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 9. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on weight of fresh seed (mg/seed) of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	1.23	1.36	
Main Factor	1	1.42	1.58	
Error	3	0.90		
Sub Factor	4	214.02	329.46	0.0000*
Interaction	4	8.13	12.52	0.0000*
Error	24	0.65		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 10. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on weight of fresh seed (mg/seed) of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.42	1.66	
Main Factor	1	0.01	0.01	
Error	3	0.28		
Sub Factor	4	228.96	825.12	0.0000*
Interaction	4	2.86	10.33	0.0001*
Error	24	0.27		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 11. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on weight of dry seed (mg/seed) of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	3084.01	1.90	
Main Factor	1	3572.10	2.20	
Error	3	2256.81		
Sub Factor	4	535073.16	329.46	0.0000*
Interaction	4	20336.22	12.52	0.0000*
Error	24	1656.46		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 12. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on weight of dry seed (mg/seed) of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	311.401	0.36	
Main Factor	1	568.13	0.63	
Error	3	905.77		
Sub Factor	4	584042.25	675.67	0.0000*
Interaction	4	4527.63	5.24	0.0035*
Error	24	864.39		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 13. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on seed moisture content (g/Kg) of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	265.297	0.9094	
Main Factor	1	29295.155	100.4242	0.0021*
Error	3	291.714		
Sub Factor	4	667332.292	2696.3545	0.0000*
Interaction	4	20424.239	82.5241	0.0000*
Error	24	247.494		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 14. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on seed moisture content (g/Kg) of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	196.006	1.6546	
Main Factor	1	8625.967	72.8178	0.0034*
Error	3	118.460		
Sub Factor	4	634833.877	4673.8199	0.0000*
Interaction	4	997.064	7.3407	0.0005*
Error	24	135.828		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 15. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on weight of fresh pod (mg/pod) of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	28878.14	0.49	
Main Factor	1	351.05	0.01	
Error	3	46131.65		
Sub Factor	4	579728.93	9.85	0.0001*
Interaction	4	121132.32	2.06	0.1181
Error	24	58869.69		
Total	39			

* Significant at (P≤ 0.05)

Appendix 16. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on weight of fresh pod (mg/pod) of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	3146.27	0.91	
Main Factor	1	3402.18	0.98	
Error	3	4347.48		
Sub Factor	4	582614.40	168.30	0.0000*
Interaction	4	64959.69	18.76	0.0000*
Error	24	3461.75		
Total	39			

* Significant at (P≤ 0.05)

Appendix 17. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on fresh germination percentage of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	24.44	1.73	
Main Factor	1	40.00	2.84	
Error	3	14.07		
Sub Factor	4	9064.58	550.00	0.0000*
Interaction	4	30.97	1.87	
Error	24	16.48		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 18. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on fresh germination percentage of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	55.18	3.29	
Main Factor	1	160.02	9.39	0.0548
Error	3	17.03		
Sub Factor	4	12562.08	834.90	0.0000*
Interaction	4	56.53	3.75	0.0164*
Error	24	15.04		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 19. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on dry germination percentage of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	10.74	2.04	
Main Factor	1	40.00	7.58	
Error	3	0.74		
Sub Factor	4	11317.37	2144.34	0.0000*
Interaction	4	25.41	4.81	0.0054*
Error	24	5.27		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 20. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on dry germination percentage of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	18.05	5.57	
Main Factor	1	33.61	10.37	
Error	3	3.24		
Sub Factor	4	12788.52	1083.23	0.0000*
Interaction	4	32.91	2.78	0.0493*
Error	24	11.80		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 21. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on seedling dry weight of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.37	0.20	
Main Factor	1	200.44	108.71	0.0019*
Error	3	1.84		
Sub Factor	4	1516.74	670.85	0.0000*
Interaction	4	15.16	6.70	0.0009*
Error	24	2.26		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 22. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on seedling dry weight of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	18.92	6.61	
Main Factor	1	66.63	23.29	0.0170*
Error	3	2.86		
Sub Factor	4	1288.64	177.81	0.0000*
Interaction	4	11.53	1.59	0.2087
Error	24	7.24		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 23. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the germination percentage after accelerated aging test (AA) of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	20.26	2.92	
Main Factor	1	40.00	5.76	
Error	3	6.93		
Sub Factor	4	14979.00	940.10	0.0000*
Interaction	4	223.00	13.99	0.0000*
Error	24	15.93		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 24. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the germination percentage after accelerated aging test (AA) of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	15.33	0.82	
Main Factor	1	0.40	0.02	
Error	3	18.53		
Sub Factor	4	12993.60	851.10	0.0000*
Interaction	4	60.40	3.95	0.0132*
Error	24	15.26		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 25. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages in two different sowing dates on the germination percentage after cold test of chickpea seed (Jubiha-2) at 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	12.60	0.36	
Main Factor	1	0.00	0.00	
Error	3	34.46		
Sub Factor	4	12780.40	1907.52	0.0000*
Interaction	4	25.00	3.73	0.0169*
Error	24	6.70		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 26. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the germination percentage after cold test of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	11.42	0.43	
Main Factor	1	4.22	0.16	
Error	3	26.29		
Sub Factor	4	10959.52	800.45	0.0000*
Interaction	4	9.72	0.71	
Error	24	13.69		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 27. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the electrical conductivity (μmhos/cm/g) of seed leachate of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	2996.87	1.15	
Main Factor	1	9273.15	3.56	0.1554
Error	3	2599.87		
Sub Factor	4	1634338.12	654.51	0.0000*
Interaction	4	4858.60	1.94	0.1354
Error	24	2497.01		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 28. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the electrical conductivity (μmhos/cm/g) of seed leachate of chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	7725.23	1.88	
Main Factor	1	37787.63	9.20	0.0561
Error	3	4105.13		
Sub Factor	4	1334211.40	321.16	0.0000*
Interaction	4	27334.94	6.57	0.0010*
Error	24	4154.29		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 29. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the concentration of nitrogen in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.44	4.99	
Main Factor	1	2.82	31.40	0.0112*
Error	3	0.09		
Sub Factor	4	2.86	25.65	0.0000*
Interaction	4	0.09	0.86	
Error	24	0.11		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 30. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the concentration of nitrogen in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.01	0.17	
Main Factor	1	0.85	9.34	0.0551
Error	3	0.09		
Sub Factor	4	0.81	15.97	0.0000*
Interaction	4	0.10	2.09	
Error	24	0.05		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 31. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the concentration of phosphorus in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.00	4.22	
Main Factor	1	0.01	46.83	0.0064*
Error	3	0.00		
Sub Factor	4	0.13	182.97	0.0000*
Interaction	4	0.00	0.57	
Error	24	0.00		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 32. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the concentration of phosphorus in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.00	0.73	
Main Factor	1	0.01	49.28	0.0059*
Error	3	0.00		
Sub Factor	4	0.03	143.93	0.0000*
Interaction	4	0.00	5.53	0.0026*
Error	24	0.00		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 33. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the concentration of potassium in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.04	3.61	
Main Factor	1	0.01	1.31	
Error	3	0.01		
Sub Factor	4	3.94	173.20	0.0000*
Interaction	4	0.01	0.63	
Error	24	0.02		
Total	39			

* Significant at (P≤ 0.05)

Appendix 34. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the concentration of potassium in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.01	2.49	
Main Factor	1	0.00	0.17	
Error	3	0.01		
Sub Factor	4	0.54	76.96	0.0000*
Interaction	4	0.02	3.34	0.0259*
Error	24	0.01		
Total	39			

* Significant at (P≤ 0.05)

Appendix 39. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the concentration of iron (ppm) in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	16.01	0.89	
Main Factor	1	813.33	45.23	0.0067*
Error	3	17.98		
Sub Factor	4	2684.86	175.09	0.0000*
Interaction	4	144.71	9.43	0.0001*
Error	24	15.33		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 40. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the concentration of iron (ppm) in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	37.58	1.74	
Main Factor	1	17620.68	820.03	0.0001*
Error	3	21.48		
Sub Factor	4	7800.75	378.15	0.0000*
Interaction	4	4150.09	201.18	0.0000*
Error	24	20.62		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 41. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stage in two different sowing dates on the concentration of zinc (ppm) in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	8.52	0.73	
Main Factor	1	39.44	3.40	0.1622
Error	3	11.58		
Sub Factor	4	168.25	15.56	0.0000*
Interaction	4	17.23	1.59	0.2082
Error	24	10.80		
Total	39			

* Significant at (P≤ 0.05)

Appendix 42. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the concentration of zinc (ppm) in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	2.31	4.68	
Main Factor	1	0.05	0.10	
Error	3	0.49		
Sub Factor	4	30.20	16.26	0.0000*
Interaction	4	10.63	5.72	0.0022*
Error	24	1.85		
Total	39			

* Significant at (P≤ 0.05)

Appendix 43. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the concentration of manganese (ppm) in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	7.47	1.45	
Main Factor	1	0.31	0.06	
Error	3	5.13		
Sub Factor	4	30.93	3.24	0.0290*
Interaction	4	23.49	2.46	0.0722
Error	24	9.52		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 44. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the concentration of manganese (ppm) in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	4.53	0.83	
Main Factor	1	164.51	30.44	0.0117*
Error	3	5.40		
Sub Factor	4	239.02	63.26	0.0000*
Interaction	4	2.22	0.58	
Error	24	3.77		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 45. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the concentration of cobalt (ppm) in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	**DF**	**MS**	**F Value**	**Prob.**
Replication	3	8.29	8.87	
Main Factor	1	83.45	89.27	0.0025*
Error	3	0.93		
Sub Factor	4	15.64	2.39	0.0784
Interaction	4	9.79	1.50	
Error	24	6.52		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 46. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of nitrogen of chickpea (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	**DF**	**MS**	**F Value**	**Prob.**
Replication	3	0.40	0.74	
Main Factor	1	17.75	33.14	0.0104*
Error	3	0.53		
Sub Factor	4	99.20	459.18	0.0000*
Interaction	4	1.49	6.91	0.0008*
Error	24	0.21		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 47. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of nitrogen in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.17	0.26	
Main Factor	1	2.67	4.09	0.1361
Error	3	0.65		
Sub Factor	4	95.27	298.13	0.0000*
Interaction	4	2.51	7.88	0.0003*
Error	24	0.32		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 48. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of phosphorus of chickpea (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.00	1.95	
Main Factor	1	0.06	30.31	0.0118
Error	3	0.00		
Sub Factor	4	2.03	938.91	0.0000*
Interaction	4	0.02	9.69	0.0001*
Error	24	0.00		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 49. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of phosphorus in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.00	0.54	
Main Factor	1	0.03	35.41	0.0095*
Error	3	0.00		
Sub Factor	4	5.53	2443.30	0.0000*
Interaction	4	0.08	38.99	0.0000*
Error	24	0.01		
Total	39			

* Significant at (P≤ 0.05)

Appendix 50. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of potassium of chickpea (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.05	4.08	
Main Factor	1	0.03	2.85	0.1894
Error	3	0.01		
Sub Factor	4	12.79	664.89	0.0000*
Interaction	4	0.16	8.49	0.0002*
Error	24	0.01		
Total	39			

* Significant at (P≤ 0.05)

Appendix 51. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of potassium in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.02	1.72	
Main Factor	1	0.00	0.07	
Error	3	0.01		
Sub Factor	4	6.51	320.49	0.0000*
Interaction	4	0.18	8.89	0.0001*
Error	24	0.02		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 52. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of calcium of chickpea (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.00	1.32	
Main Factor	1	0.01	11.57	0.0424*
Error	3	0.00		
Sub Factor	4	0.31	514.30	0.0000*
Interaction	4	0.02	45.51	0.0000*
Error	24	0.00		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 53. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of calcium in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS.	F Value	Prob.
Replication	3	0.16	0.60	
Main Factor	1	1.69	6.21	
Error	3	0.27		
Sub Factor	4	67.29	376.85	0.0000*
Interaction	4	1.25	7.03	0.0007*
Error	24	0.17		
Total	39			

* Significant at (P≤ 0.05)

Appendix 54. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of magnesium of chickpea (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.00	3.44	
Main Factor	1	0.00	0.75	
Error	3	0.00		
Sub Factor	4	0.23	756.07	0.0000*
Interaction	4	0.00	8.15	0.0003*
Error	24	0.00		
Total	39			

* Significant at (P≤ 0.05)

Appendix 55. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of magnesium in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	0.00	0.23	
Main Factor	1	0.01	30.90	0.0115*
Error	3	0.00		
Sub Factor	4	0.31	1581.22	0.0000*
Interaction	4	0.00	13.16	0.0000*
Error	24	0.00		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 56. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of iron of chickpea (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	67.42	5.50	
Main Factor	1	529.16	43.20	0.0072*
Error	3	12.24		
Sub Factor	4	21077.72	547.19	0.0000*
Interaction	4	81.12	2.10	0.1114
Error	24	38.52		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 57. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of iron in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	34.08	0.55	
Main Factor	1	15818.99	259.35	0.0005*
Error	3	60.99		
Sub Factor	4	8026.91	184.51	0.0000*
Interaction	4	11678.37	267.45	0.0000*
Error	24	43.50		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 58. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of zinc of chickpea (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	70.75	1.87	
Main Factor	1	221.21	5.87	0.0939
Error	3	37.66		
Sub Factor	4	19295.55	421.66	0.0000*
Interaction	4	496.95	10.86	0.0000*
Error	24	45.76		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 59. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of zinc in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	5.08	1.65	
Main Factor	1	16.08	5.22	
Error	3	3.07		
Sub Factor	4	21385.77	2865.22	0.0000*
Interaction	4	128.19	17.17	0.0000*
Error	24	7.46		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 60. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of manganese of chickpea (Jubiha-2) in the 2003 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	28.76	4.36	
Main Factor	1	5.60	0.84	
Error	3	6.59		
Sub Factor	4	12967.62	295.08	0.0000*
Interaction	4	285.31	6.49	0.0011*
Error	24	43.94		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 61. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of manganese in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	12.53	0.82	
Main Factor	1	985.99	64.70	0.0040*
Error	3	15.23		
Sub Factor	4	11198.41	630.56	0.0000*
Interaction	4	80.96	4.55	0.0070*
Error	24	17.75		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 62. Analysis of variance (ANOVA) for the effect of harvesting at five maturity stages and two different sowing dates on the content of cobalt in chickpea seed (Jubiha-2) in the 2004 growing season.

Source	DF	MS	F Value	Prob.
Replication	3	10.40	0.79	
Main Factor	1	324.76	24.87	0.0155*
Error	3	13.05		
Sub Factor	4	2274.97	131.87	0.0000*
Interaction	4	59.21	3.43	0.0235*
Error	24	17.25		
Total	39			

* Significant at ($P \leq 0.05$)

Appendix 63. Maximum and minimum temperatures, relative humidity, and annual rainfall for the 2004 and 2005 growing seasons at Maru Station for Agricultural Research's.

	Air Temperature		Relative Humidity		Rainfall
	Maximum	Minimum	Maximum	Minimum	
	----------°C------------		------------%-----------		mm
2003					
Nov.	27.4	15.6	75.1	33.5	47.20
Dec.	19.7	8.1	80.2	38.8	31.00
Jan.	13.2	5.1	89.8	56.6	97.80
Feb.	14.6	4.9	90.4	51.9	105.00
March	20.9	8.0	77.9	31.5	20.30
April	23.9	9.8	76.1	23.8	4.07
May	27.3	13.1	82.1	24.9	1.27
Total					**306.64**
2004					
Nov.	20.6	8.6	78.2	38.5	33.78
Dec.	18.5	7.1	76.2	39.7	68.57
Jan.	14.1	3.4	84.9	39.5	66.30
Feb.	13.5	4.4	87.1	56.1	138.70
March	19.4	6.3	83.2	34.1	16.00
April	24.1	7.8	77.7	24.3	11.43
May	29.3	10.2	84.2	24.9	14.22
Total					**349.00**